

Kurzbericht über das Projekt F1843
der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin

**Untersuchungen zur Kanzerogenität granulärer Stäube an Ratten –
Ergebnisse und Interpretationen**

F. Pott, Leverkusen
M. Roller, Dortmund

Dortmund, 2003

Untersuchungen zur Kanzerogenität granulärer Stäube an Ratten – Ergebnisse und Interpretationen¹

F. Pott² und M. Roller³

Vorwort

P. Wardenbach, BAuA

Die Kanzerogenitätsstudie mit 19 granulären Stäuben an Ratten wurde von Pott und Roller in der Zeit von Juli 1995 bis Mai 1998 im Medizinischen Institut für Umwelthygiene an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt. Umstande halber war es den Autoren zu jener Zeit nicht möglich, die histologische Auswertung des zweiten, größeren Teils der Studie zu betreuen und eine eingehende Beschreibung sowie die Auswertung der Basisdaten zu vollenden.

Wegen der besonderen Bedeutung des Themas für den Arbeitsschutz und des erwarteten großen Beitrags des umfangreichen Versuchs zur Klärung offener Fragen über die Kanzerogenität von granulären Stäuben hat die BAuA sich zum Ziel gesetzt, eine detaillierte, wissenschaftlich authentische Beschreibung und Gesamtauswertung des Experiments zu unterstützen. Damit sollen die mit öffentlichen Mitteln erhobenen Daten vervollständigt und für die Interpretation in der wissenschaftlichen Gemeinschaft verfügbar gemacht werden, insbesondere für die Arbeit des Beraterkreises Toxikologie des Ausschusses für Gefahrstoffe.

Beim Stand der Auswertung der Studie im Jahre 2001 wurde die Frage der Kanzerogenität granulärer bio-beständiger Stäube in einem Unterarbeitskreis des Beraterkreises Toxikologie eingehend diskutiert. Als Ergebnis wurde festgestellt, dass deutliche Hinweise auf ein Krebsrisiko auch bei Einhaltung des Allgemeinen Staubgrenzwertes bestehen. Daraufhin wurde eine Arbeitsgruppe aus Mitgliedern des Beraterkreises Toxikologie und der MAK-Kommission gebildet, die eine Dokumentation über die Problematik erstellen und eine Entscheidung treffen soll.

Vom 26. bis 27. Oktober 2000 fand in München ein Workshop über *Toxicity of fibers and particles* statt, auf dem über mehrere Themen vorgetragen und diskutiert

¹ Zitierweise: Pott, F., Roller, M.: Untersuchungen zur Kanzerogenität granulärer Stäube an Ratten – Ergebnisse und Interpretationen. Kurzbericht über das Projekt F1843 der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, veröffentlicht am 28.08.2003 im Internet unter <http://www.baua.de/fors/f1843.htm> – Alle Rechte einschließlich der fotomechanischen Wiedergabe und des auszugsweisen Nachdrucks oder der elektronischen Verbreitung und Übersetzung in andere Sprachen vorbehalten. Die Autoren bitten um Mitteilung von Irrtümern, die trotz aller Sorgfalt aufgetreten sein können.

² Prof. Dr. med. Friedrich Pott, Zauberkuhle 14, 51381 Leverkusen, eMail: Friedrich.Pott@t-online.de

³ Dr. rer. nat. Markus Roller, Beratungsbüro für Risikoabschätzung, Doldenweg 14, 44229 Dortmund, eMail: Markus.Roller@t-online.de

wurde. Allerdings blieben die Experimente zur Kanzerogenität der sog. *poorly soluble particles (PSP)* praktisch ausgeblendet, weil die durch PSP verursachten Tumoren der Ratte allein mit dem Stichwort *Overload* als *für den Menschen ohne Bedeutung* abgehandelt wurden. Diese Situation erforderte eine Aufarbeitung der Kanzerogenitätsversuche mit granulären, nicht spezifisch toxischen Stäuben, die nunmehr vorgelegt wird.

Leider ist es bisher nicht gelungen, alle vorhandenen histologischen Tumordiagnosen des sog. 19-Stäube-Versuchs zusammenzuführen. Die außerdem noch ausstehenden histologischen Untersuchungen werden mit Mitteln der BAuA durchgeführt werden. Die komplett vorliegenden makroskopischen Tumordiagnosen erscheinen jedoch nach den Beschreibungen von Pott und Roller (2002) in dem ausführlichen, noch unveröffentlichten Bericht des BAuA-Projektes F 1843 über die 19-Stäube-Studie soweit gesichert, dass eine vorläufige Auswertung auf dieser insbesondere für Lungentumoren unüblichen Basis möglich gemacht werden konnte. Eine Veröffentlichung der zusammengefassten Daten und des gegenwärtigen Standes der Auswertung sowie der Diskussion im Zusammenhang mit anderen Kanzerogenitätsversuchen soll daher nicht länger aufgeschoben werden.

Zusammenfassung

Primäre Ziele der Untersuchungen waren, Unterschiede zwischen der Kanzerogenität von granulären Stäuben in der Rattenlunge nach intratrachealer Instillation zu erkennen, den optimalen Dosismaßstab für ihre Wirkungsstärke zu ermitteln und ihre mögliche Bedeutung für den Menschen zu interpretieren. Für das Experiment wurden 19 Stäube ausgewählt, die sich bei gleicher Masse zumindest in einer der folgenden Eigenschaften wesentlich unterschieden: Chemische Zusammensetzung, Dichte, spezifische Oberfläche (BET-Messung) und mittlere Partikelgröße. Quarz und amorphes SiO₂ wurden als Stäube mit bekannter spezifischer Toxizität in den Test eingeschlossen, außerdem ein bisher ungeprüftes silanisierendes TiO₂, das sich als akut stark toxisch erwies.

16 Stäube bildeten eine Gruppe, für die keine spezifische Toxizität nachgewiesen wurde, die für ihre Kanzerogenität in diesem Experiment wesentlich gewesen zu sein schien. Diese Stäube wurden daraufhin als *granuläre bio-beständige Stäube ohne wesentliche bekannte spezifische Toxizität (GBS)* im Rahmen dieser Kanzerogenitätsstudie bezeichnet. 12 der 16 GBS wurden den *Feinstäuben (GBS-F)* zugerechnet (mittl. Durchmesser 0,09 – 4 µm), 4 den *Ultrafeinstäuben (GBS-UF)*, (mittl. Durchmesser 0,01 – 0,03 µm).

Die logistische Regressionsanalyse der Lungentumorhäufigkeiten der Versuchsgruppen konnte sich leider nur auf die makroskopischen Diagnosen beziehen. Sie berücksichtigte die verabreichten GBS-Massen, -Volumina, -Oberflächen und die Partikelgrößen.

Die wichtigsten Ergebnisse und Schlussfolgerungen: Alle 16 GBS erzeugten Lungentumoren, meistens dosisabhängig und viel häufiger als erwartet. Das GBS-Volumen erwies sich in Verbindung mit dem Partikeldurchmesser als der geeignetste Dosismaßstab für die Kanzerogenität der GBS. Die 4 geprüften GBS-UF (mittl. Durchmesser 0,01 – 0,03 µm) wirkten 2½-mal stärker als die 4 „kleinen“ GBS-F (mittl. Durchmesser 0,09 – 0,2 µm) und 8-mal stärker als die 8 „großen“ GBS-F (mittl. Durchmesser 1,8 – 4 µm), vermutlich aufgrund ihres unterschiedlichen Verteilungsmusters in epithelialen und anderen Zellen, Alveolen, dem Interstitium der Lunge und der Abwanderung auf verschiedenen Wegen aus der Lunge.

Eine Wirkungsschwelle für die Kanzerogenität von GBS im Bereich des Allgemeinen Staubgrenzwertes ist für die Ratte unter Berücksichtigung aller Inhalations- und Instillationsexperimente äußerst unwahrscheinlich. Das zusätzliche Krebsrisiko nach Exposition von Ratten gegenüber GBS-F (Mittelwert für alle Größen) in Höhe des seit 2001 geltenden Allgemeinen Staubgrenzwerts für alveolengängigen Staub von 3 mg/m³ wurde mit 1 - 3 % berechnet. Viele Argumente sprechen gegen die Hypothese, dass der Wirkungsmechanismus, der bei der Ratte Lungentumoren verursacht, beim Menschen nicht existiert. Aus epidemiologischen Untersuchungen ergeben sich Hinweise, nach denen beim Menschen nach äquivalenter Exposition gegenüber GBS die gleiche kanzerogene Potenz möglich ist wie bei der Ratte. Die Grenze für ein statistisch „eindeutig“ erhöhtes Lungenkrebsrisiko liegt allerdings bei Mensch und Ratte sehr hoch (Exzess-Risiko > 5 – 10 %). Insgesamt erfüllt der gegenwärtige Kenntnisstand die Kriterien für eine Einstufung von GBS in die Kategorie 2 der krebserzeugenden Stoffe nach EU-Richtlinien.

Schlagwörter: Staub, Lunge, Kanzerogenität, Ratte

Abstract, 7 Tables and 9 Figures in English are included in an addendum after the reference list

1 Fragestellungen

Der Schwerpunkt der Fragen zur Staubkanzerogenität, die mit einem umfangreichen Kanzerogenitätsversuch beantwortet werden sollten, ergab sich aus dem Sachstand zu Beginn der 90er Jahre. Dieselruß, dessen *Primärteilchen* mit einem Durchmesser im Bereich von 0,01 – 0,05 µm als *ultrafein* bezeichnet werden, und andere so genannte *ultrafeine Stäube* (Durchmesserbereich unter etwa 0,1 µm) hatten sich als deutlich Lungentumor erzeugend bei Ratten erwiesen, soweit sie in der Lunge relativ beständig waren. Nicht ultrafeine, d.h. *feine*, früher als *Inertstäube* (im Sinne von *ohne spezifische toxische Wirkung*) bezeichnete Partikeln wurden bezüglich Kanzerogenität als *nicht wirksam* beurteilt (Greim, 1997), sofern sie

monolithisch oder *kompakt* vorliegen und nicht als Agglomerate von ultrafeinen Partikeln, die in der Lunge wieder zerfallen können. Die Untersuchung an 19 Stäuben schloss auch eine – zunächst nicht bekannte – Anzahl spezifisch toxischer Stäube ein und umfasst folgende Fragen:

1. Welche der geprüften 19 Stäube können im Rahmen dieser Studie als *granuläre bio-beständige Stäube ohne bekannte wesentliche spezifische Toxizität (GBS)*⁴ beurteilt werden, obwohl sie sich in ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften zum Teil erheblich unterscheiden, und welche der 19 Stäube sind als *spezifisch toxisch* anzusehen, deren unspezifische kanzerogene Wirkung durch die *spezifische Toxizität* beeinflusst wird?
2. Führen GBS nur im Durchmesserbereich von *Ultrafeinstäuben* zu Lungentumoren? Oder erzeugen auch *Feinstäube* mit mittleren Größen zwischen etwa 0,1 und 1 µm und zwischen 1 und 4 µm statistisch signifikant erhöhte Lungentumorhäufigkeiten (das bedeutet: mehr als rund 10 %), und zwar in einem empfindlicheren Prüfmodell als dem Inhalationstest und durch Lungenstaublasten, wie sie bei sehr hoch oder mäßig hoch exponierten Bergleuten gemessen wurden?
3. Wie lässt sich ein durch Exposition am Arbeitsplatz möglicherweise verursachtes, *sozialmedizinisch und sozialpolitisch relevantes* Lungentumorrisiko⁵

⁴ In Englisch: *granular bio-durable particles without known significant specific toxicity (GBP)*. Im englischen Sprachraum wird der Begriff *poorly soluble particles (PSP)* verwendet. PSP wurden definiert als *chemically distinct non-fibrous poorly soluble particles of low acute toxicity* (ILSI, 2000). Der wichtigste Unterschied zwischen diesen beiden Definitionen, der eine neue Definition erfordert, liegt zwischen „*low acute toxicity*“ und „*without known significant specific toxicity*“; denn es geht nicht nur um die *akute Toxizität*, die bei den GBS definitionsgemäß nur relativ gering sein darf, um keine individuelle Stoffeinstufung mit niedrigerem Grenzwert zu erfordern. Bezüglich der *chronischen Toxizität* und Kanzerogenität soll bei den GBS die *unspezifische Kanzerogenität* ganz im Vordergrund stehen, die jeder relativ bio-beständige Staub unabhängig von seiner chemischen Zusammensetzung besitzt. Auf diese *unspezifische Kanzerogenität* sollen Grenzwerte für GBS, soweit realisierbar, „gesundheitsbasiert“ abgestellt sein. Eine *spezifische Toxizität* und Kanzerogenität soll *nicht wesentlich* sein, um eine Einstufung in die Gruppe der GBS zu rechtfertigen. Die Definition von PSP meinte möglicherweise mit der nicht erwähnten chronischen Toxizität diese immer vorhandene *unspezifische wesentliche Kanzerogenität*. Diese mangelnde Präzision der ILSI-Definition ist aber nicht annehmbar, weil sie zu Missverständnissen führt, denn schwerlösliche Metallverbindungen (Prototyp: Nickeloxid) besitzen zwar akut eine nur geringe Toxizität, aber eine *spezifische Kanzerogenität*, die ab einem gewissen Nickeloxidgehalt wahrscheinlich als *wesentlich* oder *maßgebend* eingeschätzt werden muss. Im Unterschied dazu lassen sich mögliche „kleine“ Wirkungsanteile durch bekannte Kanzerogene in einem relativ bio-beständigen Staub als *unwesentlich* beurteilen. Sie sind zwar im Prinzip kanzerogen, wenn sie aber in einem GBS-Staub nur einen abschätzbaren Anteil von – als Vorschlag – bis zu 40 % ausmachen, besteht kein ausreichender Grund für eine getrennte Einstufung. Typisches Beispiel hierfür ist Dieselruß (s. 4.2). Die Frage, ob es toxische Inhaltsstoffe von GBS gibt, die eine relevante nicht-neoplastische Wirkung haben, die einen individuellen, niedrigeren Grenzwert als für GBS erfordern, ist in jedem Einzelfall zu prüfen. Dies könnte z.B. für die untersuchten Aluminiumverbindungen der Fall sein.

⁵ Für die amerikanische Arbeitsschutzbehörde (OSHA, 1997) ist nach einer Begründung des Obersten Gerichtshofs (Supreme Court) ein Risiko von 1 zu 1000 *clearly significant*: "The Supreme Court has

innerhalb des großen, nicht statistisch signifikant erhöhten Bereichs zwischen 0,1 und 10 % schätzen?

4. Mit welcher der Staubeigenschaften Volumen, Oberfläche und Partikeldurchmesser, die alle GBS bei gleicher Masse innerhalb eines breiten Spektrums besitzen, lassen sich ihre kanzerogene Wirkungsstärke und die Dosis-Wirkungsbeziehungen möglicherweise besser beschreiben als durch die Masse? – Oder: Welche Staubeigenschaft repräsentiert das kanzerogene Agens am besten? – Oder: Welcher Dosismaßstab ist optimal?
5. Wie groß ist der Unterschied zwischen der kanzerogenen Wirkungsstärke von GBS und reinem Quarzstaub DQ 12?
6. Erhöht der Quarzgehalt von Kohlenrubenstäuben ihre Kanzerogenität im Vergleich zu quarzfreiem Kohlenstaub?
7. Induziert auch das gut bio-lösliche amorphe SiO₂ eine persistierende Entzündung, Fibrose und Tumoren?
8. Ändert die Hydrophobierung eines Staubes seine Wirkung?
9. Wie verhält sich die Empfindlichkeit des Instillations-tests zu der des Inhalationstests?
10. Wie ist die Übertragbarkeit der Kanzerogenität von GBS bei der Ratte auf den Menschen zu beurteilen?

2 Kurzbeschreibung des Tierexperiments

Für das Experiment wurden 19 Stäube ausgewählt, die Vergleiche der Ergebnisse von Paaren und Gruppen ermöglichen sollten. Die meisten Stäube unterschieden sich voneinander zumindest in einer der folgenden Eigenschaften erheblich: Chemische Zusammensetzung, Dichte, BET-Oberfläche, mittlere Partikelgröße, Oberflächenverhalten in Wasser (hydrophil, hydrophob). Eine Übersicht über die Stäube in der Anordnung nach abnehmendem mittlerem Durchmesser mit Angaben der in diesem Zusammenhang wichtigsten physikalischen Daten gibt Tabelle 1.

Ein breites Dosispektrum zwischen 5 und 120 mg wurde durch intratracheale Instillationen in wöchentlichen Abständen an weibliche Wistar-Ratten verabreicht. Aufgrund von Daten aus veröffentlichten Experimenten wurde die mittlere Staubbelaugung der Lungen bei den nicht spezifisch toxischen Stäuben konstant auf

zwei Drittel der instillierten Dosis geschätzt, wenngleich dieser Faktor zumindest bei den niedrigeren Dosen zu hoch liegen dürfte. (Daten und Diskussion in Driscoll *et al.* 2000, und Pott und Roller, 2002.) Geplante Staubanalysen von je 6 Lungen bei bestimmten Gruppen unterblieben umständehalber; sie würden wahrscheinlich wegen der bekannten großen Streuung der Einzelwerte die Präzision gegenüber der Schätzung mit einem konstanten Faktor nicht deutlich verbessert haben. Unter der durchgängigen Voraussetzung einer längerfristigen, eher zu hoch als zu niedrig geschätzten Retention von zwei Dritteln der instillierten Dosis ergaben sich längerfristige mittlere Lungenstaublasten von 1,5 bis 100 µL und eine Stauboberflächenbeladung der Lungen von 0,1 bis 13 m². Die Dosis-Wirkungsbeziehungen wurden durch eine logistische Regressionsanalyse ermittelt. Die höchsten Staubbelaugungen der Rattenlungen entsprachen dem Staubgehalt von Kohlenberggleuten nach höchster Exposition von 50 – 100 g (Einbrodt, 1967, King *et al.* 1956), die niedrigste derjenigen von nicht beruflich gegenüber Staub Exponierten älteren Frauen aus Großstädten in früheren Jahrzehnten im Bereich von 2,5 g (Einbrodt und Dohmes, 1967) (Lungengewichte siehe ⁶). Diese lag im Bereich des Staubvolumengrenzwertes der MAK-Kommission von 1 µL/g Kontroll-Lunge (Greim, 1997). Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die Versuchsgruppen und die Ergebnisse.

Das Gesamtexperiment umfasst 2050 Ratten mit 46 Versuchsgruppen, davon 3 Kontrollgruppen; es besteht aus den beiden Teilen *Kohlenstaubversuch* (Pott *et al.*, 2000), der im Juli 1995 begann, und dem *Versuch mit Nicht-Bergbaustäuben*, der in zwei Staffeln 8 und 16 Wochen später angesetzt wurde (Pott und Roller, 2000). 2½ Jahre nach Beginn wurden die überlebenden Ratten getötet; der letzte Teil endete im Mai 1998.

Versuchsplanung, Materialien, Begründung der Dosierungen, Durchführung und Verlauf des Versuchs sind in dem Schlußbericht des BAuA-Projekts F1843 (2002) im Einzelnen beschrieben, darüber hinaus Details der Ergebnisse und weitere Erörterungen. Ein umfangreicher Anhang zum Hauptteil des Berichts enthält Darstellungen und Analysen der Gewichtsentwicklungen und Überlebenszeiten in den Versuchsgruppen, außerdem für jede Versuchsgruppe ein Datenblatt mit den Basisdaten über die Lebenszeit und die Tumordiagnosen jedes Tieres. Die makroskopischen Diagnosen liegen in allen Fällen vor, die mikroskopischen nur für den Kohlenstaubversuch.

Von den histologischen Präparaten, die in der Abteilung für Histopathologie des Medizinischen Instituts für Umwelthygiene hergestellt worden waren, konnten von uns 1997/98 nur noch diejenigen aus dem 1. Teil (Kohlenstaubversuch) zur histopathologischen Tumordiagnostik von HE-gefärbten Schnitten an das Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung (ITA) in Hannover übergeben werden. Sie wurden dort von einem der drei Pathologen Dr. H. Ernst, Frau Priv. Doz. Dr. S. Rittinghausen und Prof. Dr. U. Mohr nach gleichen Kriterien untersucht; schwierige Fälle diagnostizierten alle drei in einem Panel. Die Klassifizierung der Lungentumoren erfolgte

noted that a reasonable person would consider a fatality risk of 1/1000 to be a significant risk, and would consider a risk of one in one billion to be insignificant. ... So a risk of 1/1000 (10⁻³) represents the uppermost end of a million-fold range suggested by the Supreme Court, somewhere below which the boundary of acceptable versus unacceptable risk must fall." Ein *nicht nennenswerter Beitrag zum Krebsrisiko* sollte demnach unterhalb von 0,1% liegen, falls in Deutschland rechtlich kein anderer Wert vorgegeben wird.

⁶ Lungengewichte im Alter von 20-21 Jahren: Männer 953 g, Frauen 793 g (Geigy, 1968). Mauderly (1994) geht nach International Commission on Radiological Protection bei gesunden Lungen von 1200 g am Lebensende aus und einem bis auf das Doppelte erhöhten Lungengewicht bei Berggleuten. Gewicht der Rattenlunge (Stämme Wistar und Fischer 344) im Alter von 8–10 Wochen 0,9–1,0 g. Infolgedessen kann das Verhältnis der gesunden Lungengewichte von Ratte und Mensch entsprechenden Alters sehr vereinfachend mit 1 zu 1000 angenommen werden.

nach Boorman *et al.* (1996) und den Kriterien der IARC (Dungworth *et al.*, 1992). Die Ergebnisse der Tumorfrequenzen und Tumortypen in den Versuchsgruppen wurden veröffentlicht (Pott *et al.*, 2000), die histologischen Tumordiagnosen für jede Ratte, häufig von mehr als einem Tumor pro Tier, sind in den Basisdatenblättern des Anhangs zum Bericht aufgeführt.

Die vorliegenden histologischen Tumordiagnosen aus dem 2. Teil des Experiments wurden uns für eine Auswertung bisher nicht zur Verfügung gestellt, so dass sich die Analysen der Dosis-Wirkungsbeziehungen in wesentlichen Teilen auf die makroskopischen Tumordiagnosen beschränken mussten.

Es war geplant, insbesondere die Beziehungen zwischen Fibrosegrad und Tumorfrequenz für bestimmte Stäube und Staubdosen durch morphometrische Untersuchungen von Lungenschnitten zu ermitteln. Wir hatten jedoch nur noch die Möglichkeit, Fragestellungen an die BAuA heranzutragen, deren Klärung uns durch weitere histologische Untersuchungen an dem umfangreichen Material toxikologisch und arbeitsmedizinisch wichtig erscheint.

3 Ergebnisse

1. 16 der 19 untersuchten Stäube wurden aufgrund der Ergebnisse als *granuläre bio-beständige Stäube ohne bekannte wesentliche spezifische Toxizität (GBS)* im Rahmen dieses Experiments definiert. Den Erläuterungen der Definition von GBS in der Fußnote 4 unter *Fragestellungen* entsprechend, wurde Dieselruß trotz seines Gehalts an organischen Stoffen mit gentoxischem und kanzerogenem Potential den GBS zugerechnet. (Begründung s. 4.2)
2. Im Unterschied zu den 16 GBS zeigten drei weitere Stäube (Quarz, amorphes SiO₂ und TiO₂-UF, das durch Beschichtung mit einer organischen Siliziumverbindung hydrophobiert worden war) eine wesentliche spezifische Toxizität und zwar mit unterschiedlichen Wirkungseigenschaften. Darüber hinaus ergaben sich Hinweise auf eine spezifische Toxizität von Aluminiumverbindungen, die im Rahmen der Kanzerogenitätsstudie nicht als wesentlich beurteilt wurde, aber einen spezifischen Grenzwert erforderlich machen könnte.
3. Von 1664 mit GBS behandelten Ratten erfüllten 1593 (=95,7 %) die Kriterien für die Auswertbarkeit (Überlebenszeit über 6 Mon., Sektion, keine wesentliche Autolyse, Anfertigung von Lungenschnitten). Alle GBS erzeugten in der Regel dosisabhängig Lungentumoren. Die histologischen Tumordiagnosen für den 1. Teil des Experiments (Kohlenstaubversuch) wurden von Rittinghausen, Ernst und Mohr gestellt (s. Kurzbeschreibung). Tabelle 3 enthält die pro Gruppe zusammengefassten Häufigkeiten an

Lungentumoren, unterteilt in gut- und bösartige Tumoren und die Überlebenszeiten von weniger als 2 und zwischen 2 und 2½ Jahren. Unter 613 Ratten wurden 368 mit einem oder mehreren primären Lungentumoren gefunden, davon bei 296 mindestens *ein* maligner Tumor, in 159 mehr als einer vom gleichen malignen Typ, in 90 mindestens 2 Typen, in 13 Lungen 3 oder mehr Typen.

Für den Kohlenstaubversuch wurden die makroskopischen Diagnosen von primären Lungentumoren in 92,5 % der Fälle mikroskopisch bestätigt. Im Durchschnitt aller Versuchsgruppen lag die mikroskopisch ermittelte Tumorfrequenz um 53 % höher als die makroskopische, weil viele kleine Tumoren die Lungenoberfläche nicht erreichen oder makroskopisch nicht diagnostizierbar sind. Histologisch wurden in der einzigen der drei Kontrollgruppen, von der uns die Ergebnisse bekannt sind, keine Tumoren gefunden. Für die weiteren Analysen der Dosis-Wirkungsbeziehungen musste von einer ausreichenden Aussagekraft der makroskopischen Diagnosen ausgegangen werden, um den Versuch auswerten zu können.

4. Das GBS-Volumen erwies sich in Verbindung mit der Partikelgröße als das Kriterium, das die Kanzerogenität von GBS am besten repräsentiert. Das ergab eine umfassende logistische Regressionsanalyse unter Einbeziehung von bis zu 44 der 46 Versuchsgruppen und mehreren Variablen. Für die spezifische Oberfläche ergab sich unter Berücksichtigung der anderen Variablen kein statistisch signifikanter Einfluss. Zur grafischen Darstellung wurden weitere Auswertungen vorgenommen. Die Abb. 1 bis 3 veranschaulichen die Tumorfrequenzen in Abhängigkeit von den drei alternativen Dosismaßstäben GBS-Masse, -Volumen und -Oberfläche; dabei wurde zwischen *Feinstaub (GBS-F)* und *Ultrafeinstaub (GBS-UF)* unterschieden.
5. Die multivariate logistische Regression ergab einen statistisch hoch signifikanten Unterschied zwischen den kanzerogenen Wirkungsstärken der Gesamtheit der 12 GBS-F und den 4 GBS-UF. Die GBS-UF waren *im Mittel* 3 bis 5mal stärker wirksam als die Gesamtheit der GBS-F.

Der große Durchmesserbereich der GBS-F macht jedoch eine Unterteilung in zwei Klassen sinnvoll, so dass für eine differenziertere Betrachtung der kanzerogenen Wirkungsstärken der untersten makroskopisch eindeutig positiven Dosen insgesamt *drei* GBS-Größenklassen gebildet wurden: die „*ultrafeinen*“, die „*kleinen feinen*“ und die „*großen feinen*“. Diese drei Größenklassen stehen in einem Verhältnis der mittleren Größen von rund 1 zu 10 zu 100 zueinander:

(Fortsetzung auf Seite 6)

Tab. 1 - Stäube und einige physikalische Daten. – Links: Daten von fünf *Idealstäuben* (einheitliche Partikelgröße, kugelförmig, glatt, Dichte 1 g/mL) mit Teilchendurchmessern absteigend von 2 bis 0,02 µm und den daraus berechneten Partikelzahlen pro mg und spezifischen Partikeloberflächen. – Rechts: Die untersuchten 19 Stäube

„I d e a l e“ S t ä u b e ^a			Die 19 untersuchten Stäube ^b					
Part.- durch- mess. [µm]	Spezif. Parti- kelzahl [10 ⁹ /mg]	Spezif. Ober- fläche [m ² /g]	Staub	Spezif. Part.- zahl [10 ⁹ /mg]	Mittl. Durchm. [µm]	Spezif. Oberfl. (BET) [m ² /g] ^c	Dichte [g/mL]	Spezif. Vol. [µL/mg]
Feinstäube								
2	0,24	3,0	ZrO ₂		4,0	4,4	5,85	0,17
			Magerkohle ^d	0,27	4,0	4,1	1,4	0,71
			Toner		3,5	3,6	1,2	0,83
			Fettkohle ^d	0,54	3,4	6,4	1,8	0,56
			Gasflammkohle ^d	1,5	2,4	10,9	2,2	0,45
			Gestein ^d	1,2	2,3	17,6	2,4	0,42
			Kaolin		2,0	19	2,5	0,40
			Untere Fettkohle ^d	1,7	1,8	9,9	1,4	0,71
1	1,9	6,0	Quarz ^d	3,6	1,1	8,8	2,6	0,38
0,2	240	30	TiO ₂		0,2	10	3,9	0,26
			Lungenstaub		0,2	12	2,0	0,50
			Dieseleruß, Lkw		0,2	13	1,85 ^e	0,54 ^e
0,1	1.900	60	Flammruß 101		0,095	18	1,85	0,54
Ultrafeine Stäube								
0,02	240.000	300	TiO ₂ hydrophil		0,025	52	3,8	0,26
			TiO ₂ hydrophob		0,02	33	3,8	0,26
			Aluminiumsilikat		0,015	63	2,1	0,48
			Furnaceruß Pr. 90		0,014	337	1,85	0,54
			Amorphes SiO ₂		0,014	210	2,2	0,45
			Al ₂ O ₃		0,013	124	2,9	0,34

^a Für einen *Idealstaub*, der aus Kugeln mit glatter Oberfläche und gleicher Größe mit der Dichte 1 besteht, kann das Verhältnis zwischen Durchmesser, spezifischer Oberfläche und Anzahl der Kugeln *pro Masseneinheit* folgendermaßen allgemein beschrieben werden: Wenn der Durchmesser um den Faktor 2 kleiner wird, vergrößert sich die Oberfläche mit dem Faktor 2, und die Teilchenzahl steigt mit dem Faktor 2³.

^b Die Anordnung der Stäube abfallend nach ihrem mittleren Durchmesser ist in einigen Fällen möglicherweise nicht korrekt, weil die Bestimmungsmethoden unterschiedlich waren und ein nicht unerheblicher Streubereich der Werte besteht. Z. B. wurden für TiO₂ UF mittlere Durchmesser von 0,021 und 0,03 µm veröffentlicht und daher von uns ein Wert von 0,025 eingesetzt. Da die Korngrößenverteilungen nicht bekannt sind, sich aber von Fall zu Fall sehr unterschiedlich auf die mit der BET-Methode bestimmten Oberfläche des Gesamtstaubs auswirken können, lassen sich die Ursachen von primär nicht plausiblen Ergebnissen schwer interpretieren. Die gleiche Oberfläche von Kohlen-grubenstaub mit geringem Kohleanteil (=Gesteinsstaub) und Kaolin einerseits und Flammruß mit einem mehr als 20-mal kleineren mittleren Durchmesser andererseits lässt sich nur mit einer sehr zerklüfteten Oberfläche der gröberen Stäube erklären. Flammruß sollte folgerichtig unterhalb des

angegebenen mittleren Durchmessers nur ein schmales Korngrößenspektrum aufweisen, oberhalb muß das Spektrum breiter sein; nur so lässt sich erklären, dass die BET-Oberfläche nur ein Drittel des Idealstaubes mit 0,1 µm einheitlichem Kugel-Durchmesser beträgt. Das gleiche trifft für alle ultrafeinen Stäube zu, die eine erheblich kleinere BET-Oberfläche aufweisen als ein Idealstaub im Bereich der mittleren Durchmesser der realen Stäube. Die relativ geringe Oberfläche des TiO₂ UF wird zum Teil durch die hohe Dichte verursacht.

^c Messergebnisse von Eickhoff, K.-P. Gesellschaft für Oberflächen- und Festkörperuntersuchung mbH (o.f.u.), Hamburg. Prüfbericht B 010 4014 für die Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Mai 2001.

^d Herkunft und Daten der Stäube größtenteils von Herrn Dr. Armbruster, Deutsche Montan Technologie, Essen.

^e Annahme in Analogie zu Industrieruß, für den eine Dichte zwischen 1,8 und 1,9 angegeben wird (Degussa 1994). Der Anteil organischer Stoffe im Dieseleruß wird hierbei nicht berücksichtigt, weil damit gerechnet wird, dass er sich in der Lunge löst. Wir sind bei den Berechnungen von einem bio-beständigen Anteil von 50 % ausgegangen.

4 GBS-UF (mittl. D. 0,01 – 0,03): Al₂O₃ (C), Al-Silikat (P 820), Furnace Ruß (Printex 90), TiO₂ (P 25); alle von Degussa.

4 GBS-F (mittl. D. 0,09 – 0,2 µm): Flammruß (Deg. 101), TiO₂, Lungenstaub (Bergmann, Silikose III) und Dieselruß (LKW). Der Dieselruß bestand nach EM-Aufnahmen von Rödelsperger ganz überwiegend aus (nicht unterscheidbaren) Agglomeraten und Aggregaten. Der Zerfall in ihre ultrafeinen Primärteilchen im Unterschied zum Furnace Ruß war im entscheidenden ersten Versuchsjahr offenbar nicht oder kaum wirkungsrelevant.

8 GBS-F (mittl. D. 1,8 – 4,0 µm): Gemahlene Kohle (2 Proben, SiO₂ < 0,1 %; Asche 5 und 6 %), 3 Kohlengrubenstäube (SiO₂-Gehalt 1,3%, 9,0%, 16,7%; Asche ~40 %, ~60 %, 86 %, letzterer wegen seines hohen Ascheanteils auch Steinstaub genannt), Kaolin ~Al₂Si₂O₅(OH)₄, Toner für Photokopierer (Polymer mit Rußkern), ZrO₂.

Die Wirkungsstärken gleicher GBS-Volumina dieser drei Größenklassen sind im niedrigen Dosisbereich statistisch signifikant unterschiedlich und stehen in einem Wirkungsverhältnis der Odds Ratios wie ungefähr 8 zu 2,5 zu 1. Abb. 4 veranschaulicht diese Verhältnisse, indem sie sich auf die Darstellung der niedrigsten tumor-positiven Messpunkte für jeden Staub beschränkt. Bei diesen Zahlenwerten kann es sich allerdings nicht um endgültige Ergebnisse handeln, weil nur mit den makroskopischen Tumordiagnosen gerechnet werden konnte. Daher wird bei den folgenden Berechnungen nicht zwischen den *kleinen feinen* und den *großen feinen* Partikeln differenziert, sondern von einem mittleren Unterschied zwischen GBS-F und GBS-UF von 1 zu 3 - 5 ausgegangen. *Alle Risikoangaben und Verhältniszahlen sollten neu berechnet werden, wenn die endgültigen histologischen Befunde vorliegen.*

6. In Anbetracht des Ergebnisses, dass das Staubvolumen in Verbindung mit dem Partikeldurchmesser die kanzerogene Potenz von GBS am besten repräsentiert, ist der *Volumengrenzwert* der MAK-Kommission (Greim, 1997) von 1 µL *Feinstaub ohne spezifische Toxizität pro g Kontroll-Lunge* für die weitere Beurteilung der kanzerogenen Wirkung der GBS ein wesentlicher Bezugspunkt. (Im Folgenden wird für diesen Grenzwert die Abkürzung VolGw verwendet.) Die Beziehungen zwischen dem Lungengehalt an GBS-F und den Tumorfrequenzen zeigen, dass der Prozess der Kanzerogenese auch bei höheren Dosen, die bereits weit über der sog. Overload-Schwelle liegen, praktisch nicht erschöpft wurde. Im Niedrigdosisbereich wurden in der Gruppe mit der niedrigsten Dieselrußdosis, die im Bereich des VolGw lag, bei 2 von 45 Ratten makroskopisch Lungentumoren diagnostiziert, ein histologisch noch zu klärendes Ergebnis. In den Versuchsgruppen des Kohlenstaubexperiments mit Staubmassen pro Gramm Lunge, die der Spitzenbelastung von Bergleuten aus dem Kohlenbergbau am Ende des Berufslebens entsprach, wurden histologisch ermittelte Tumorfrequenzen bis zu

84 % gefunden, im Mittel dieser fünf Stäube 73 %, mit der halben Dosis 55 %. Diese niedrigere der beiden Dosen entspricht bereits etwa dem 30-fachen VolGw der MAK-Kommission, die höhere Dosis konnte diesen Effekt noch deutlich steigern.

7. Für eine Lungenstaublast von 1,5 µL GBS-F (entspricht etwa dem genannten VolGw von 1 µL/g Kontroll-Lunge) ergeben die mit der logistischen Regression berechneten Dosis-Wirkungsbeziehungen ein Lungentumorrisiko von 9,4 %, für GBS-UF ein Risiko von 27 %. Wenn für die höhere Empfindlichkeit des Instillationstests in unseren Ergebnissen auf der Basis der makroskopischen Tumordiagnosen der Faktor 3,5 angesetzt wird (Erklärung in 4.4), ergibt sich nach Inhalation ein Tumorrisiko durch die Lungenstaublast beim VolGw für GBS-F von 2,7 %. Für GBS-UF gibt es bisher keinen Grenzwert; nach einer Belastung in Höhe des VolGw für GBS-F errechnet sich für GBS-UF ein Lungentumorrisiko von 7,6 % nach inhalativer Exposition. Der hyperlineare Verlauf der Kurve für die Dosis-Häufigkeitsbeziehungen, die sich aus der logistischen Regressionsanalyse ergibt, entspricht der hyperlinearen Funktion der Formel, die von Miller (2000) für diese Beziehungen verwendet wurde, obwohl er diese Beziehungen durch den logarithmischen Maßstab in seiner Graphik unkenntlich machte (s. 4.5).
8. Quarzstaub DQ 12 wirkte aufgrund seiner biologisch aktiven Oberflächeneigenschaft etwa 10 bis 40mal stärker kanzerogen als die GBS-F. Die bereits starke Wirkung der niedrigsten der drei Dosen erschwert eine genauere Schätzung.
9. Die drei Grubenstäube mit Quarzanteilen von 1,3 %, 9 % und 16,7 % zeigten keinen stärkeren Effekt als die beiden Stäube aus gemahlener Kohle. Der Steinstaub mit hohem Ascheanteil von 86 % und 16,7 % Quarz hatte die schwächste Wirkung der fünf Stäube. Der Unterschied zu den zusammengefassten vier anderen kohlehaltigen Stäuben ist in beiden Dosierungen statistisch signifikant.
10. Pyrogenes amorphes SiO₂ ist einerseits akut toxisch und kann eine Fibrose erzeugen; es zeigte jedoch makroskopisch keine eindeutige Kanzerogenität.
11. Hydrophobiertes ultrafeines Titandioxid wirkte in der zunächst geplanten Einzeldosis von 6 mg akut tödlich. Bei einer Nachprüfung 8 Monate später ergab sich eine LD₅₀ von etwa 1 mg innerhalb von 24 Stunden nach der Instillation, während 20 mg des hydrophilen TiO₂ P 25 in dieser Zeit keinen akuten Todesfall unter 12 Ratten verursachten (Tab. 4). In dem Kanzerogenitätsversuch stand durch die unerwarteten Verluste und Zwischenversuche zur Verträglichkeit nur noch eine stark reduzierte Tierzahl zur Verfügung. Eine eingehende histologische Auswertung der kleinen Tierzahl ist erforderlich, um die spezifische Langzeitwirkung des hydrophobierten TiO₂ im Vergleich zum nicht beschichteten TiO₂ beurteilen zu können. Die vorliegenden Ergebnisse wurden uns bisher nicht übermittelt.

(Fortsetzung Seite 14: **4 Schlussfolgerungen ...**)

Tab. 2 - Übersicht über Versuchsgruppen, intratracheal instillierte Staubdosen, Anzahl Ratten, Überlebenszeiten und Lungentumorhäufigkeiten.

Staub (Stoffbezeichnung (F = fein, UF = ultrafein))	Dosis instilliert		Retin. Vol. /Lunge [µL] ^b	Anzahl Ratten Beginn / <i>at risk</i> ^c	<i>Survival</i> 50 % [Wo] ^d	Lungen mit Tumor(en) [%]					Tum. /retin. Staub ^g [%/µL]
	Instillat. x mg	Vol. ^a [µL]				makroskop. ^e alle primär	mikroskopisch ^f ben. mal. gesamt				
<i>Teil 1: Bergbaustäube (Kohlenstaubversuch)</i>											
Trägerflüssigkeit ^h	20 x 0	–	–	48/47	110	6,4	2,1	0,0	0,0	0,0	–
Magerkohle, F	11 x 6	47	31	48/47	109	48,9	34,0	8,5	48,9	57,4	1,8
< 0,1 % SiO ₂	20 x 6	86	57	48/48	101	43,8	39,6	2,1	62,5	64,6	1,1
Untere Fettkohle, F	10 x 6	43	29	48/48	108	33,3	25,0	20,8	33,3	54,2	1,9
< 0,1 % SiO ₂	20 x 6	86	57	48/44	106	70,5	61,4	4,5	72,7	77,3	1,4
Fettkohle, F	10 x 6	33	22	48/48	106	45,8	43,8	10,4	45,8	56,3	2,5
1,3 % SiO ₂	20 x 6	67	44	48/45	99	57,8	44,4	22,2	57,8	80,0	1,8
Gasflammkohle, F	10 x 6	27	18	48/43	108	39,5	32,6	11,6	60,5	72,1	4,0
9,0 % SiO ₂	20 x 6	55	36	48/45	95	62,2	53,3	17,8	66,7	84,4	2,3
Gestein, F	10 x 6	25	17	48/47	102	27,7	19,1	6,4	27,7	34,0	2,0
16,7 % SiO ₂	20 x 6	50	33	48/45	105	44,4	37,8	11,1	46,7	57,8	1,7
Quarz, F	5 x 1	1,9	0,8 ⁱ	38/35	103	60,0	51,4	17,1	48,6	65,7	> 51 ⁱ
99,1 % SiO ₂	10 x 1	3,8	1,7 ⁱ	38/35	106	65,7	54,3	14,3	57,1	71,4	> 28 ⁱ
	10 x 2	7,7	3,4 ⁱ	38/36 ^k	100	67,6	64,9	22,2	55,6	77,8	> 15 ⁱ
<i>Teil 2: Nicht-Bergbaustäube</i>											
Ruß, F	5 x 6 ^m	17	11	48/45	106	44,4	35,6	n			3,2
Flammruß 101	10 x 6 ^m	33	22	48/46	104	50,0	45,7	n			2,1
	20 x 6 ^m	66	44	48/47	108	70,2	53,2	n			1,2
Ruß, UF	5 x 1,5 ^m	5	3	48/46	110	56,5	45,7	n			14
Printex 90	5 x 3 ^m	10	6	21/18 ^p	112	83,3	83,3	n			13
	5 x 3	8	5	27/27 ^p	107	70,4	48,1	n			8,9
	5 x 6	16	11	48/48	108	75,0	62,5	n			5,8
	10 x 6	32	22	48/47	100	72,3	57,4	n			2,7
Al-oxid, UF	5 x 6	10	7	48/44	111	75,0	63,6	n			9,2
	10 x 6	21	14	48/47	97	70,2	55,3	n			4,0
Al-silikat, UF	5 x 6	14	10	48/47	107	59,6	48,9	n			5,1
	10 x 6	29	19	48/45	108	73,3	48,9	n			2,6
Kaolin, F	10 x 6	24	16	48/48	115	37,5	29,2	n			1,8
	20 x 6	48	32	48/47	121	59,6	51,1	n			1,6
unbehandelt (1)	–	–		48/46	124	0,0	0,0	n			–

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tab. 2 - Fortsetzung

Staub (Stoff- bezeichnung) (F = fein, UF = ultrafein)	Dosis intratr.		Retin. Vol. / Lunge [µL] ^b	Anzahl Ratten Beginn / <i>at risk</i> ^c	<i>Survival</i> 50 % [Wo] ^d	Lungen mit Tumoren [%]				Tum. /retin. Staub ^g [%/µL]	
	Instillat. x mg	Vol. ^a [µL]				makroskop. ^e		mikroskopisch ^f			
						alle	primär	ben.	mal.	gesamt	
Dieselruß, F	3 x 2,5	2,0 ^q	1,4	48/45	117	8,9	4,4				3,3
	5 x 3	4,1 ^q	2,7	48/47	115	23,4	12,8				4,7
	5 x 6	8,1 ^q	5,4	48/45	108	48,9	31,1				5,8
TiO ₂ , UF hydrophil	5 x 3	3,9	2,6	48/42	114	47,6	35,7				14
	5 x 6	7,9	5,3	48/46	114	52,2	47,8	?	?	66 ⁿ	9,1
	10 x 6	16	11	48/46	104	54,3	43,5				4,1
TiO ₂ , UF hydrophob	15 x 0,5	2,0	(tox.)	24/11	86	9,1	0,0				
	30 x 0,5	3,9		24/15	114	20,0	20,0				
Toner, F	10 x 6	50	33	24/24	111	41,7	41,7				1,3
	20 x 6	100	67	24/24	101	66,7	62,5				0,9
TiO ₂ , F	10 x 6	15	10	48/44	108	22,7	22,7	?	?	27 ⁿ	2,2
	20 x 6	31	21	48/44	113	36,4	36,4				1,8
ZrO ₂ , F	10 x 6	10	6,8	48/47	115	12,8	12,8				1,9
Lungenstaub, F Silikose III	10 x 6	30	20	40/40	117	67,5	57,5				2,9
	20 x 6	60	40	40/34	107	67,6	47,1				1,2
SiO ₂ , amorph UF	5 x 3	6,8	(lös-)	40/37	113	13,5	8,1				
	10 x 3	14	lich)	40/35	112	2,9	0,0				
unbehandelt (2)	–	–	–	48/46	113	6,5	0,0				–

^a Berechnet aus der instillierten Masse und ihrer Dichte.

^b Bei den GBS wird eine langfristig retinierte Staublast von im Mittel 2/3 angenommen; der Anteil dürfte bei kleinen Dosen niedriger sein.

^c Ratten *at risk* = für die Tumorfrequenz auswertbare Ratten: Überlebenszeit mindestens 6 Monate nach der ersten Instillation, Sektion, keine wesentliche Autolyse, Lungen für histologische Untersuchung entnommen.

^d Zeit nach der ersten intratrachealen Instillation, bis zu der 50 % der Gruppe starben (abzüglich der im Anschluss an die Narkose zur Instillation gestorbenen Tiere).

^e Ratten mit einem oder mehr makroskopisch gefundenen Lungentumoren. Aufgrund des Gesamtbefundes wurde zwischen Tumoren mit wahrscheinlich primärem Sitz in der Lunge und wahrscheinlichen Metastasen von Tumoren mit primärem Sitz außerhalb der Lunge unterschieden.

^f Nur primäre Lungentumoren. Histologische Tumortypen, Verteilung auf die Gruppen und Metastasen in Pott *et al.* (2000).

^g Verhältnis der beobachteten Tumorfrequenz zur Dosis als Maß für die kanzerogene Wirkungsstärke in dieser Gruppe.

^h Instillationen in wöchentlichem Abstand von 0,4 mL 0,9% phosphatgepufferter NaCl-Lösung; Zusatz von Tween 80: 0,5 % bei Kontrolle, Kohlenstäuben, Dieselruß und den

synthetischen Rußen, 1 % bei hydrophobem TiO₂ und Toner.

ⁱ Durch die starke Tendenz von Quarzstaub, in die Lymphknoten zu wandern, reduziert sich der Quarzgehalt der Lunge in 10 Monaten nach der Instillation auf etwa 30 %, d.h., von 10 mg Quarz mit einer Dichte von 2,6 g/mL verbleiben 1,7 µL Quarz. Das Zeichen > vor den *kursiv* geschriebenen Zahlen soll auf die Unsicherheiten hinweisen.

^k 37 Tiere nach makroskopischem Befund (1 Tier nicht histologisch untersucht).

^m Irrtümlich 1 zusätzliche Instillation. Das dadurch zusätzlich instillierte Staubvolumen wurde bei der Berechnung des instillierten Gesamtvolumens berücksichtigt.

ⁿ Die Tumorfrequenzen aufgrund histologischer Befunde wurden für den 2. Versuchsteil bisher nur für zwei TiO₂-Gruppen und ohne Tumordifferenzierungen veröffentlicht (Borm *et al.*, 2000).

^p Die beiden kleinen Untergruppen wurden für die Statistik vereint. Volumenunterschied durch die Fehlinstillation ca. 20 %.

^q Löslicher Anteil nach Literaturdaten für LKW auf 50 % geschätzt (UBA, 1999).

Tab. 3 - Ratten mit Lungentumor(en) des Teils 1 (Kohlenstaubversuch). Anzahl der Ratten mit einem oder mehr als einem Lungentumor, bei den histologisch diagnostizierten primären Lungentumoren unterteilt in Überlebenszeiten bis zu zwei Jahren und bis zu ca. 2½ Jahren

Staub	Ges.- dosis itr. [mg]	Rat- ten at risk ^a	Ratten mit Lungentumor(en), histol. primäre Typen ^b						Ratten m. mal. Tum.			Ratten m. benign. und / oder mal. Tumor(en)		Überleb. zeit der 1. Ratte m. Lu.tum. [Wo]	
			Makr. ^c	benigne ^d			maligne ^e			> 1 Tu. (gleich. Typ) ^h	> 1 Typ	> 2 Typ.	primäre Lung.tum.		Metastas. and. Tum. ⁱ
				2 J.	2½ Jahre ^f	()	2 J.	2½ Jahre ^g	()						
Trägerflüssigkeit	0	47	3/ 1	0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	0 = 0,0 %	8	–
Magerkohle, < 0,1 % SiO ₂	66 120	47 48	23/16 21/19	0 6	13 19	(4) (1)	2 9	23 30	(14) (12)	9 16	9 10	0 3	27 = 57,4 % 31 = 64,6 %	8 10	97 57
Untere Fettkohle, < 0,1 % SiO ₂	60 120	48 44	16/12 31/27	5 4	18 17	(10) (2)	2 13	16 32	(8) (17)	9 25	2 12	0 2	26 = 54,2 % 34 = 77,3 %	5 6	55 56
Fettkohle, 1,3 % SiO ₂	60 120	48 45	22/21 26/20	4 11	14 24	(5) (10)	5 10	22 26	(13) (12)	13 14	7 11	0 2	27 = 56,3 % 36 = 80,0 %	7 11	62 55
Gasflammkohle, 9,0 % SiO ₂	60 120	43 45	17/14 2 8/24	5 8	18 20	(5) (8)	6 11	26 30	(13) (18)	16 15	8 6	1 1	31 = 72,1 % 38 = 84,4 %	6 4	68 60
Gestein, 16,7 % SiO ₂	60 120	47 45	13/ 9 20/17	1 3	7 12	(3) (5)	2 7	13 21	(9) (14)	6 9	3 3	1 0	16 = 34,0 % 26 = 57,8 %	8 7	84 67
Quarz, 99,1 % SiO ₂	5 10 20	35 35 36 ^k	21/18 23/19 25/24	6 5 16	17 19 25	(6) (5) (8)	4 6 11	17 20 20	(6) (6) (3)	8 13 6	8 6 5	2 1 0	23 = 65,7 % 25 = 71,4 % 28 = 77,8 %	8 4 2	68 51 66
			↓ <i>Anzahl Ratten mit primär. Lungentumor(en) : Nur benigne a + maligne b ergeben</i>									↓ c^m			
Summen:		613	289/241	74	223	(72)	88	296	(145)	159	90	13	368		

^a Ratten *at risk* = für Tumorfrequenz auswertbare Ratten (s. Tab 2). Von insgesamt 642 angesetzten Ratten wurden 613 (95,5 %) histologisch diagnostiziert.

^b Histopathologisch differenzierte primäre Lungentumoren: *Benigne*: Adenom, Epitheliom. *Maligne*: Adenokarzinom, Plattenepithelkarzinom (nicht keratinisierend, keratinisierend, zystisch keratinisierend). Summen der Tumortypen in Tab. 7.

^c Die Ziffer vor dem Schrägstrich ist die Anzahl Ratten mit Lungentumor einschließlich der Tumoren, für die der Verdacht auf eine Metastase eines Primärtumors mit Sitz außerhalb der Lunge besteht; die Ziffer nach dem Schrägstrich betrifft die Anzahl Ratten mit Lungentumoren, bei denen es sich aufgrund des Gesamtbefundes sehr wahrscheinlich um Tumoren mit primärem Sitz in der Lunge handelt.

^d Ein oder mehr als ein benigner Tumor pro Lunge. In den meisten Fällen wurde in derselben Lunge außerdem ein oder mehr als ein maligner Tumor gefunden, außer in den Fällen, die in () angegeben sind (insgesamt 72 von 223, s. Fußnote ^f).

^e Ein oder mehr als ein maligner Tumor pro Lunge. In insgesamt etwa der Hälfte der Fälle (145 von 296) wurde ein oder mehr als ein benigner Tumor in derselben Lunge gefunden, außer bei den Fällen, deren Zahl in () angegeben ist (s. Fußnote ^g).

^f In Klammern: Anzahl Ratten, bei denen nur gutartige Lungentumoren gefunden wurden.

^g In Klammern: Anzahl Ratten, bei denen keine eindeutig erkennbaren gutartigen Lungentumoren gefunden wurden; eine gutartige Läsion könnte der Ausgangspunkt eines malignen Tumors gewesen sein, sie kann aber wegen des infiltrierenden und destruktiven Wachstums nicht mehr erkannt werden.

^h Bei Ratten, die in dieser Spalte aufgeführt sind, wurde mehr als ein maligner Tumor des gleichen Typs diagnostiziert (insgesamt 159), häufig ist ein zweiter maligner Tumortyp gefunden worden (nächste Spalte, insgesamt 90), selten mehr als ein zweiter Tumortyp (übernächste Spalte, insgesamt 13).

ⁱ Ratten mit Lungenmetastase(n) von Tumoren mit primärem Sitz außerhalb der Lunge wurden nicht als Tumortiere gewertet.

^k 37 Tiere nach makroskopischem Befund (1 Tier nicht histologisch untersucht).

^m Für die statistischen Berechnungen gewertete Tumorfrequenzen.

Tab. 4 - Akute Mortalität nach intratrachealer Instillation oder intraperitonealer Injektion von hydrophobem ultrafeinem Titandioxid P 805 (Sigma-Aldrich) und hydrophilem ultrafeinem Titandioxid P 25 (Degussa) [Exp. 96/1, Juli 1996 mit weiblichen Wistar-Ratten; Alter etwa 8 Wochen bei der ersten Behandlung; veröffentlichte Daten (Pott et al., 1998) wesentlich ergänzt]:

1.) Zwei intratracheale (i.tr.) Instillationen, zweite Instillation 8 Tage nach der ersten bei den Überlebenden der Gruppen 1, 2, 5, 6, und 8.

2.) Zwei intraperitoneale (i.p.) Injektionen an zwei hintereinander folgenden Tagen (Gruppen 4 und 7)

Gruppen-Nr.	Staub	Dosis ^a (1. i.tr. Inst., 1. + 2. i.p. Injektion ^b)	Anzahl Ratten		Dosis ^a der 2. Instillat. 8 Tage nach 1. Instillat.	Anz. Ratten gestorben 24 h nach 2. Instill. ; nach weiteren 5 Tagen
			gestorben in 24 h nach Behandlung / behandelt	lebend 8 Tage nach 1. Behandl.		
1	TiO ₂ P 805	0,5 mg i.tr.	3 / 12 = 25 %	9	0,5 mg i.tr.	4 ; 0
2	TiO ₂ P 805	1 mg i.tr.	7 / 12 = 58 %	5	1 mg i.tr.	4 ; 0 ^d
3	TiO ₂ P 805	2 mg i.tr.	11 / 12 = 92 %	1	–	–
4	TiO ₂ P 805	125 mg i.p. +125 mg i.p. ^b	1 / 12 = 8 % 0 / 11 = 0 %	11	–	–
5	TiO ₂ P 25	10 mg i.tr.	0 / 12	12	10 mg i.tr.	0 ; 0 ^e
6	TiO ₂ P 25	20 mg i.tr.	0 / 12 ^c	11 ^c	20 mg i.tr.	0 ; 0
7	TiO ₂ P 25	125 mg i.p. +125 mg i.p. ^b	0 / 12 0 / 12	12	–	–
8	Kontrolle	0,4 mL i.tr.	0 / 12	12	0,4 mL i.tr.	0 ; 0 ^e

^a Trägerflüssigkeit: 0,9 % NaCl-Lösung, phosphatgepuffert, mit 1 % Tween 80; 0,4 mL i.tr. (wie Kontrollgruppe); 5 mL i.p. (i.p. keine Kontrollgruppe eingesetzt).

^b Zweite i.p. Injektion von 125 mg 1 Tag nach der ersten Injektion.

^c 1 Tier starb 3 Tage nach der 1. i.tr. Instillation.

^d REM Untersuchung der Lunge bei dem einzigen Tier, das beide Instillationen bis zu diesem Zeitpunkt überlebte.

^e REM Untersuchung der Lunge bei einem Tier.

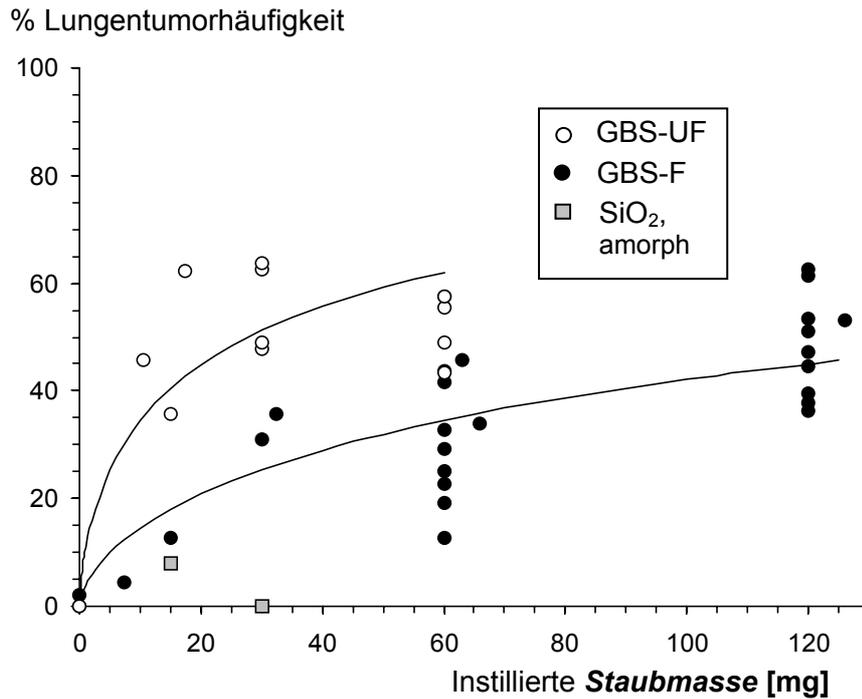


Abb. 1 - Beobachtete Tumorhäufigkeiten in Abhängigkeit vom Dosismaß *Staubmasse* (Datenpunkte von 12 GBS-F und 4 GBS-UF) sowie Kurven des Logitmodells (multivariate logistische Regression). Das nicht bio-beständige amorphe SiO₂ wurde nicht in die Berechnungen einbezogen.

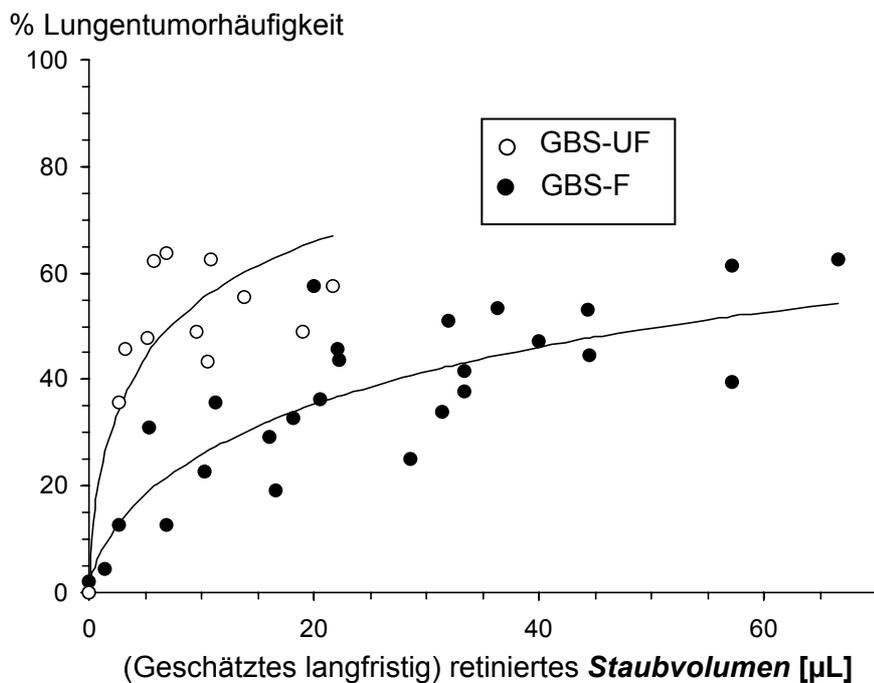


Abb. 2 - Beobachtete Tumorhäufigkeiten in Abhängigkeit vom Dosismaß *Staubvolumen* (Datenpunkte von 12 GBS-F und 4 GBS-UF) sowie Kurven des Logitmodells (multivariate logistische Regression).

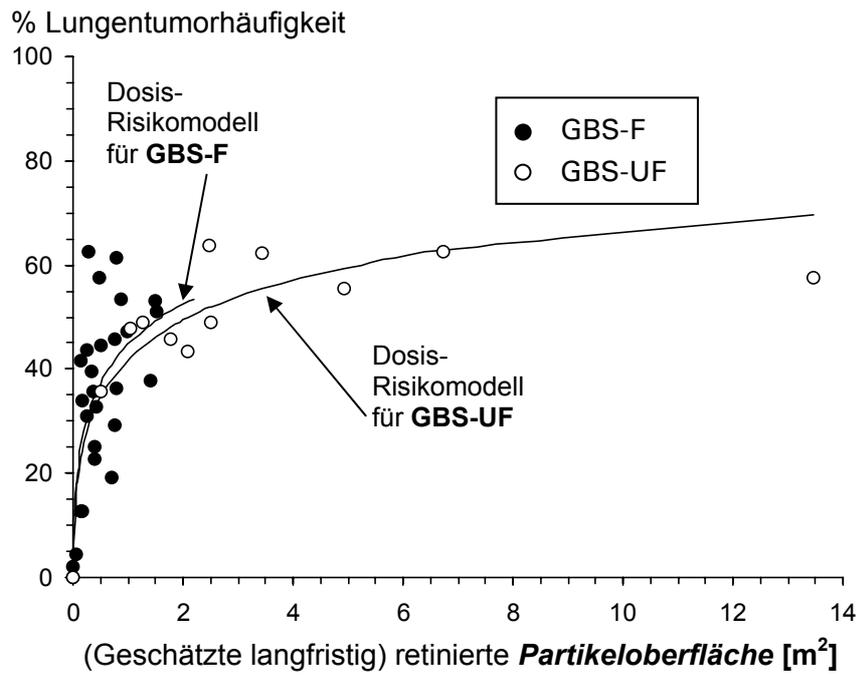


Abb. 3 - Beobachtete Tumorhäufigkeiten in Abhängigkeit vom Dosismaß *Stauboberfläche* (Datenpunkte von 12 GBS-F und 4 GBS-UF) sowie Kurven des Logitmodells (multivariate logistische Regression).

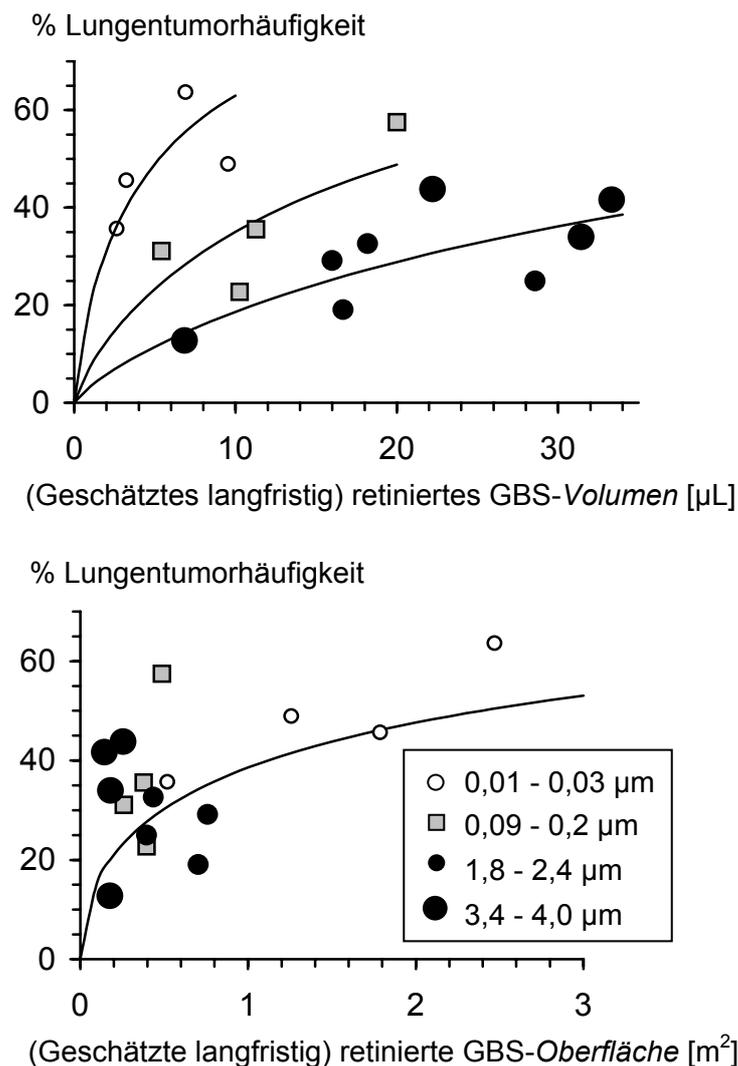


Abb. 4 - Beobachtete Tumorzahlfrequenzen bei den jeweils niedrigsten Dosen der 16 GBS, bei denen makroskopisch eindeutig erhöhte Tumorzahlfrequenzen gefunden wurden. Vergleich der Dosismaßstäbe GBS-Volumen (oben) und GBS-Oberfläche (unten). Kurven nach logistischer Regression. Nur der Volumenmaßstab führt nach Lage der Datenpunkte zu deutlichen Dosis-Häufigkeitsbeziehungen; mit dem Oberflächenmaßstab sind die größten Partikeln (mittl. D. 3,4 - 4 µm) wirksamer als die GBS-UF.

Die drei Größenklassen mit mittleren Durchmessern von 0,01 – 0,03 µm (4 GBS-UF), von 0,09 – 0,2 µm (4 „*kleine*“ GBS-F) und von 1,8 – 4 µm (8 „*große*“ GBS-F) stehen in einem Größenverhältnis von rund 1 zu 10 zu 100 zueinander. Die Wirkungsstärken gleicher GBS-Volumina dieser Größenklassen sind statistisch signifikant unterschiedlich und stehen in einem Wirkungsverhältnis der Odds Ratio wie ungefähr 8 zu 2,5 zu 1. Zwischen den mittleren Größen von 1,8 bis 2,4 µm und denen zwischen 3,4 und 4,0 µm, die in der Abbildung mit unterschiedlich großen Punkten eingezeichnet sind, ist beim Volumenmassstab (oben) kein Wirkungsunterschied erkennbar, so dass sie zusammengefasst werden können.

4 Schlussfolgerungen und Erörterung des Datenumfelds

4.1 Optimaler Maßstab für die kanzerogene Potenz: GBS-Volumen in Verbindung mit der Partikelgröße

Aus den Ergebnissen mit 12 GBS-F und 4 GBS-UF lässt sich eindeutig schließen, dass das *Volumen in Verbindung mit der Partikelgröße das kanzerogene Agens besser repräsentiert als die BET-Oberfläche und die Masse*. Bis zur Klärung des Wirkungsmechanismus kann das GBS-Volumen vorläufig als das biologisch wirksame Agens angesehen werden und die Partikelgröße als die Eigenschaft, die die Wahrscheinlichkeit beeinflusst, mit der das Volumen sich auf die verschiedenen Lokalisationen in der Lunge verteilt und infolgedessen die Dosis an den für die Wirkungen wichtigen Zielpunkten mitbestimmt, wo immer diese auch liegen mögen. Die größere Abwanderungsrate der kleineren Teilchen in die Lymphknoten im Vergleich mit den größeren erschwert zusätzlich die Ermittlung der tatsächlich wirksamen Dosen und der kanzerogenen Potenz der unterschiedlichen Teilchengrößen, deren Spektrum sehr breit sein kann.

Ergänzend zu den Abbildungen 1 bis 4 mit verschiedenen Maßstäben für die Dosis-Häufigkeitsbeziehungen aufgrund der makroskopischen Tumordiagnosen zeigt Abb. 5a-c die fehlende Plausibilität des Maßstabs *GBS-Oberfläche pro Lunge* mit den mikroskopischen Ergebnissen des Kohlenstaubversuchs. Unter den 5 Stäuben sind nur solche mit relativ großem mittlerem Durchmesser, weitab von ultrafein, dies im Unterschied zu der Datensammlung von Driscoll (1996). Die drei Grafiken zeigen, dass nur der Maßstab *Staubvolumen* (5b) zu verwertbaren Dosis-Häufigkeitsbeziehungen führt. Quarz und die kohlehaltigen Stäube unterscheiden sich etwa um den Faktor 10 bis 40; der Faktor 30, der zwischen den „angedachten“ Grenzwerten für beide Staubtypen im Gespräch ist, liegt in diesem Bereich. Der Maßstab *Stauboberfläche pro Lunge* führt in Abb. 5c ähnlich wie in Abb. 4 zu Verhältnissen, die innerhalb des gesamten Datenumfelds keinen vernünftigen Sinn geben. Denn der Unterschied zwischen Quarz und der Magerkohle mit niedriger spezifischer Oberfläche ist nur klein (~1 zu 15) anstatt so groß wie bei dem Vergleich von Oberdörster (2002) zwischen Quarz und anderen Stäuben aus der Darstellung von Driscoll (Verhältnis ca. 1 zu 450). Dieser große Unterschied wird durch andere Ergebnisse nicht gestützt. Wenn der Oberflächenmaßstab korrekt wäre, müssten die Dosis-Häufigkeitsbeziehungen beim Kohlenstaub steil ansteigen, jedoch nicht für den Steinstaub mit hohem Quarzgehalt. Die zerklüftete Oberfläche des Steinstaubs hat keine entsprechend starke Wirkung, während der Volumenmaßstab die relativ schwache Wirkung, die trotz des hohen Quarzgehalts vorliegt, einigermaßen ausgleicht und die Messpunkte in eine wesentlich andere Reihenfolge bringt als der Maßstab *Oberfläche*. Die

spezifischen Oberflächen der kohlehaltigen Stäube liegen zwischen 4,1 und 17,6 m²/g, die mittleren Durchmesser zwischen 1,8 und 4 µm. Die x-Achse braucht für die Kohlenstäube nur einen Bereich bis 1,5 m² zu erfassen. Weniger als 1 m² der in der Lunge retinierten Kohlenstäube waren bereits mit Tumorfrequenzen bis über 80 % (histologisch) assoziiert, 0,18 m² Magerkohle mit 57 %.

Das Kriterium *GBS-Oberfläche* wurde im Wesentlichen von drei Autoren bzw. Autorengruppen (Driscoll, Oberdörster, Tran) aufgrund von Datenanalysen als der beste Dosismaßstab für die Wirkungsstärke von GBS beurteilt. Andere Autoren schlossen sich dieser Schlussfolgerung ohne Prüfung der Daten an, z.B. Greim *et al.* (2001): *„Studies in rodents have shown that particle surface area is a better predictor than particle mass for both PMN (Oberdörster, 1996; Tran et al., 2000) and tumor (Driscoll, 1996) responses“*. Die Messempfehlung der Autoren betrifft Partikeloberfläche, Anzahl, Masse und Durchmesser; die Dichte bzw. das Volumen werden nicht erwähnt. In anderen Veröffentlichungen mit GBS wird die Frage nach dem optimalen Maßstab nicht diskutiert, sondern das übliche Dosismaß *Masse* angewendet; einige Arbeiten eignen sich aber für entsprechende Analysen. Die nach unserer Kenntnis wichtigsten Arbeiten werden im Folgenden kurz dargestellt und erörtert.

Driscoll (1996) kommt nach der Zusammenfassung von 14 Messpunkten aus Inhalations- und Instillationsversuchen an drei Rattenstämmen mit Feinstäuben und Ultrafeinstäuben zu dem Ergebnis, der Maßstab *Stauboberfläche* korreliere besser mit der Tumorfrequenz als der Maßstab *Staubmasse*. Das Kriterium Volumen wurde nicht geprüft. Jedoch, bereits die Zusammenfassung von solch heterogenen Experimenten und die angewandte statistische Methode machen den Rückschluss auf die Oberfläche als optimalen Maßstab fragwürdig. Bei den Analysen von Driscoll fallen folgende Aspekte auf:

- für die Regressionsanalyse wurden die nicht optimale Methode der kleinsten Quadrate und ein ungewöhnliches Modell (das Werte größer als 100 % und kleiner als 0 % Tumorfrequenz annehmen kann) verwendet;
- in ungewöhnlicher Weise wurden die Datenpunkte, bei denen keine als statistisch signifikant bewertete Tumorfrequenz aufgetreten war, aus der Analyse ausgeschlossen;
- durch den Ausschluss von Datenpunkten (z.B. Talk) verbleiben - neben dem einzelnen Datenpunkt von Lee *et al.* (1985) mit vermutlich weniger empfindlichen Sprague-Dawley-Ratten - letztlich nur die Daten von 3 Staubarten in der Analyse: Dieselruß, ultrafeiner Industrieruß, ultrafeines TiO₂. Die Gleichbehandlung von Lungenstaubdosen am Ende einer 15-wöchigen Instillationsperiode und denen nach zweijähriger Inhalation ist nicht adäquat.

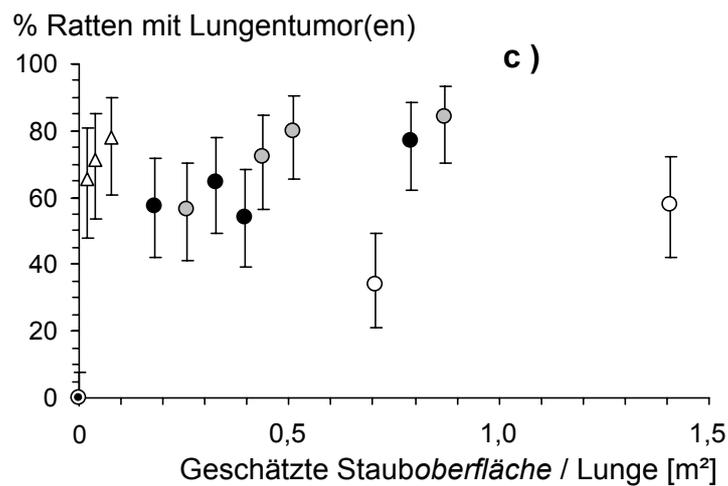
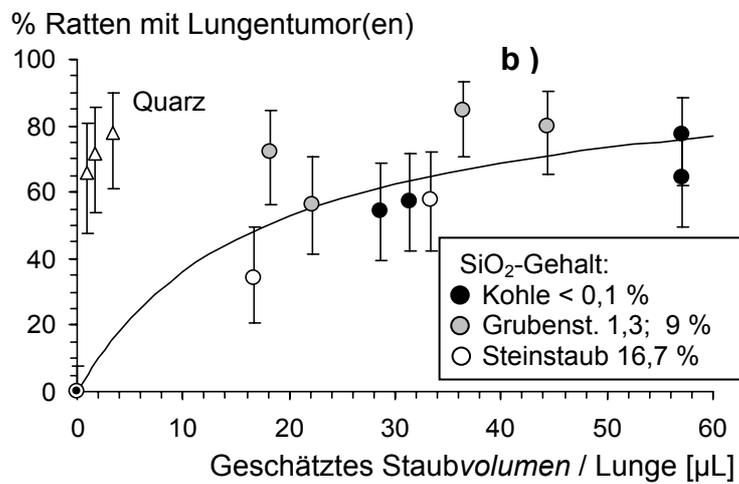
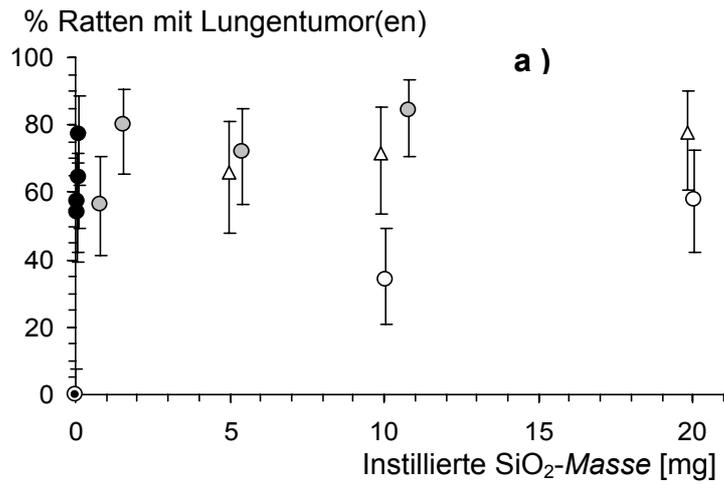


Abb. 5 - Dosis-Häufigkeitsbeziehungen der Kohlenstaubstudie, histologische Tumordiagnosen, drei Dosismaßstäbe: **a)** instillierte Quarzmasse, **b)** geschätztes retiniertes Staubvolumen (2/3 der instillierten Dosis), Berechnung der Kurve mit der logistischen Regression ohne Quarz, **c)** geschätzte retinierte Stauboberfläche (2/3 der instillierten Dosis).

Oberdörster (2001) zeigt Diagramme, in denen die Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen je drei instillierten Dosen TiO₂-Staub *ultrafein* und *fein* und den neutrophilen Leukozyten (PMN) in der Lungenspülflüssigkeit durch eine einzige Kurve gut beschrieben werden, wenn der Dosismaßstab *Oberfläche* verwendet wird. Mit dem Maßstab *Masse* ergeben sich zwei Kurven, wobei die Kurve für UF deutlich steiler ansteigt, so dass sich ein ähnliches Bild wie in den oben gezeigten Abbildungen 1 und 2 ergibt. Von diesem Einzelfall mit zwei Stäuben gleicher Dichte und wahrscheinlich auch gleicher Oberflächenstruktur kann aber nicht auf die Eignung des Maßstabs *BET-Oberfläche* für ein breites Spektrum von unterschiedlichen GBS geschlossen werden, wie andere Beispiele zeigen.

Oberdörster (2002) verwendete die Graphik von Driscoll (1996) mit dem Maßstab *Oberfläche*, um den Abstand zwischen der kanzerogenen Potenz von GBS und Quarzstaub zu veranschaulichen. Hieraus lässt sich ein Unterschied von etwa 1 zu 450 ablesen. Dies ist ein Ergebnis für den Wirkungsunterschied zwischen Quarz und GBS, das im Vergleich mit zahlreichen anderen aus dem Rahmen fällt und daher ein zusätzliches Argument gegen die *Oberfläche* als geeignetes Kriterium für die Wirkungsstärke darstellt.

Tran et al. (2000) fanden nach Inhalation von TiO₂ und BaSO₄-Stäuben mit ungefähr gleicher Dichte eine gute Assoziation zwischen den unterschiedlichen Stauboberflächen in der Lunge und dem Gehalt an neutrophilen Zellen (PMN) in der Lungenspülflüssigkeit. Die errechneten mittleren geometrischen Durchmesser der beiden Stäube von rund 1 und 2 µm waren jedoch mit ziemlich ungleichen Partikelgrößenverteilungen verbunden (schriftl. Mitt. von Dr. Jones und Dr. Tran, 06. Febr. 2003), so dass 80-mal anstatt – wie rechnerisch bei ähnlicher Größenverteilung zu erwarten – 8-mal so viele TiO₂-Partikeln pro mg enthalten waren wie im BaSO₄-Staub. Aus den zahlreichen kleineren Partikeln resultiert ein anderes Wanderungsverhalten, was in der deutlich größeren TiO₂-Masse in den Lymphknoten zum Ausdruck kommt. Insgesamt ergeben die untereinander nicht konsistenten Befunde aus dem Vergleich von nur zwei Feinstäuben ohne Einschluss eines Ultrafeinstaubes keine überzeugende Basis für die Schlussfolgerung, die *Oberfläche* sei der optimale Maßstab für GBS über alle Teilchengrößen hinweg.

Vergleich Kohle – ultrafeiner Ruß. Bei dem Vergleich dieser beiden Stäube im Hinblick auf den PMN-Gehalt in der Lungenspülflüssigkeit (Ernst et al., 2002) wurde die Frage nach dem optimalen Maßstab zwar nicht diskutiert, aber die Ergebnisse eignen sich für eine solche Betrachtung. 9 Monate nach 10 wöchentlichen Instillationen von je 0,5 mg Ruß-UF oder je 1,0 mg Kohlenstaub (Magerkohle, wie in Tab. 1 charakterisiert) ergab sich folgendes: Das 2,6-fache Staubvolumen von Kohle im Vergleich mit Ruß war mit der halben Anzahl PMN in der BAL assoziiert. Daher kann man – auf den Maßstab *Volumen* bezogen – von einer fünffach stärkeren Wirkung des ultrafeinen Rußes sprechen. Auf die *Oberfläche* bezogen war Ruß mit einer 73-mal

größeren BET-Oberfläche (~ 300 m²/g im Vergleich zu 4,1 m²/g) 37-mal höher dosiert als Kohle und erzeugte etwas mehr als die doppelte Anzahl PMN. Nach linearer Umrechnung wäre die Oberfläche des Kohlenstaubs etwa 15-mal wirksamer als beim Ruß.

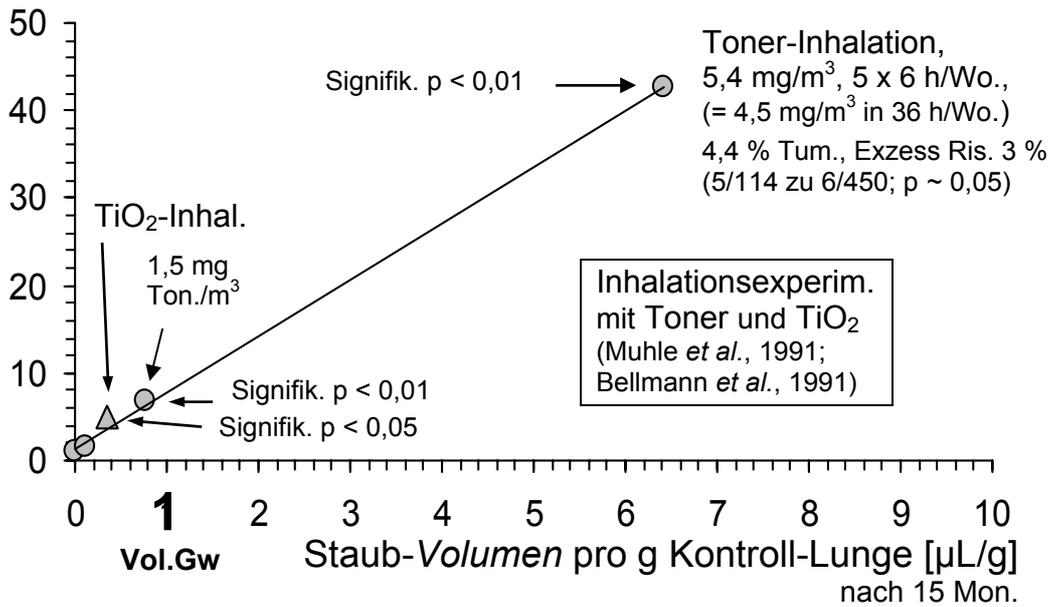
Auch in der Arbeit von **Driscoll et al. (1997)** über PMN und Zahl der *hprt*-Mutanten pro 10⁶ Alveolarepithelzellen in der BAL-Flüssigkeit nach Instillation von Quarz, Ruß-UF und TiO₂-F wurde die Frage nach dem optimalen Dosismaßstab für die beiden GBS nicht diskutiert. Die stärkere Wirkung des Ruß-UF im Vergleich mit dem TiO₂-F lässt sich nicht mit der Oberflächendosis erklären, sondern mit einer größeren Wanderung der ultrafeinen Teilchen und damit zugleich ihres größeren Volumens an die – letztlich unbekanntes – „sensiblen“ Stellen in der Lunge, an denen das Wirkungspotential der Partikeln in Effekte umgesetzt wird.

PMN-Daten aus dem Inhalationsexperiment mit Toner und TiO₂ (Muhle et al., 1991; Bellmann et al., 1991) zeigen mit dem Maßstab *Volumen* lineare Dosis-Wirkungsbeziehungen (Abb. 6, oberer Teil), während die Daten in dem Diagramm mit dem Oberflächenmaßstab schlecht zusammen passen (Abb. 6, unterer Teil). In 4.6 wird diskutiert, dass statistisch signifikant erhöhte PMN-Werte sowohl unterhalb des MAK-VoIGw als auch unterhalb der von Tran et al. (2000) abgeleiteten Wirkungsschwelle zu finden sind.

Einerseits kann eine wissenschaftlich zweifelsfreie Beurteilung über den optimalen Dosismaßstab für GBS im gesamten Partikelgrößenbereich in den Beziehungen zu den biologischen Wirkungen aufgrund der gegenwärtigen Datenlage nicht getroffen werden; andererseits ist eine gegenwärtige Entscheidung für den Maßstab *GBS-Volumen* unter Berücksichtigung der Partikelgrößen gerechtfertigt. Dabei reicht die Unterteilung in die beiden Größenklassen *fein* und *ultrafein* offensichtlich nicht aus. Aus biologischer Sicht ist ein fließender Übergang zwischen etwa 0,01 und 1 µm anzunehmen, anstatt einer formal festgelegten Stufe. Die Einteilung in drei Größenklassen, wie sie in Abb. 4a durchgeführt wurde und die statistisch signifikante Unterschiede ergab, veranschaulicht die Verhältnisse im Instillationsversuch nach makroskopischen Befunden.

Die stärkere Wirkung der ultrafeinen Stäube im Vergleich mit Feinstaub ist bereits häufig an den Ergebnissen aus den beiden Inhalationsversuchen von Lee et al. (1985) und Heinrich et al. (1995) mit feinem und ultrafeinem Titandioxid demonstriert und mit einem Verhältnis von 10 zu 1 bis 20 zu 1 beziffert worden. Auch aus den in Tab. 5 enthaltenen Daten dieser beiden Versuche lässt sich ein Verhältnis von 9 zu 1 für die Tumorfrequenz pro µL retinierter Staub bei den weiblichen Ratten herauslesen, das um etwa 50 % höhere Lungengewicht der Sprague-Dawley-Ratten in dem Lee-Experiment im Verhältnis zu den Wistar-Ratten reduziert jedoch diesen Faktor entsprechend. Aber auch das Verhältnis 6 zu 1 ist etwas höher als nach unseren Daten errechenbar, weil der aus dem

% PMN nach 15 Mon.



% PMN nach 15 Mon.

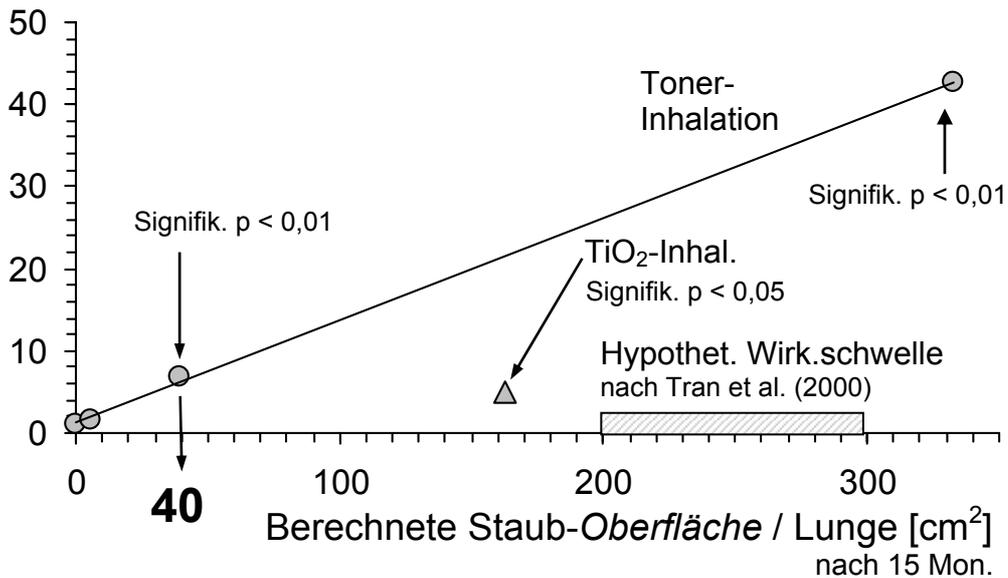


Abb. 6 - Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen zwei GBS (Toner, TiO_2) und den neutrophilen Granulozyten (PMN) in der Lungenspülflüssigkeit von Ratten mit den beiden Dosismaßstäben *Volumen* (obere Graphik) und *Oberfläche* (untere Graphik); Ergebnisse aus einem Langzeit-Inhalationsversuch (s. Tab. 5; Muhle *et al.*, 1991; Bellmann *et al.*, 1991). Die Volumen- und Oberflächendosen wurden aus den angegebenen Staubmassen und folgenden Daten errechnet: Spezifische Oberfläche Toner $3,6 \text{ m}^2/\text{g}$, TiO_2 $9 \text{ m}^2/\text{g}$; Dichte Toner $1,2 \text{ g/mL}$, TiO_2 $4,3 \text{ g/mL}$. Mit dem Maßstab *Volumen* ergeben sich lineare Dosis-Wirkungsbeziehungen mit statistisch signifikant erhöhten Werten unterhalb des MAK-VolGw von 1 µL Staub/g Kontroll-Lunge. Mit dem Maßstab *Oberfläche*, für den Tran *et al.* (2000) aus ihren Inhalationsversuchen mit zwei Stäuben bei $200 - 300 \text{ cm}^2/\text{Lunge}$ eine Wirkungsschwelle für PMN ableiteten, wird deutlich, dass PMN-Werte aus dem Experiment von 1991 unterhalb dieser hypothetischen Schwelle signifikant erhöht waren. Die Ergebnisse sprechen für das *Volumen* als das bessere Dosismaß und gegen das Vorliegen einer Wirkungsschwelle in Höhe des VolGw der MAK-Kommission.

MMAD berechnete mittlere Partikeldurchmesser in dem Lee-Experiment 0,8 µm beträgt. Hier könnte sich die vermutete geringere Empfindlichkeit der Sprague-Dawley-Ratte zeigen; Einzelwerte sind allerdings kaum zuverlässige Stützpunkte.

Unabhängig von den experimentellen Ergebnissen besteht aus biologischer Sicht ein grundsätzlicher Einwand gegen den Oberflächenmaßstab. Er ist darin begründet, dass kleine und große Staubteilchen gleich behandelt werden; die Unterschiede in der Wanderungsfähigkeit und Lokalisation der Partikel in der Lunge bleiben unberücksichtigt. Offenbar sind die Befürworter des Oberflächenmaßstabs der Ansicht, dass die Wirkung unterschiedlicher Partikelgrößen durch die größere spezifische Oberfläche der kleineren Partikel angemessen in das Ergebnis eingeht. **Es kann jedoch nicht zutreffen, dass die Lokalisation von Staubteilchen in der Lunge und ihre größenabhängige Abwanderung aus der Lunge für ihre biologische Wirkungsstärke gleichgültig ist.**

Außerdem ist folgende Frage zum Wirkungsmechanismus zu stellen: Wie kann die „pure“ oder „blanke“ BET-Oberfläche von physikalisch unterschiedlich gestalteten GBS-Teilchen flächenproportional biologische Wirkungen induzieren, obwohl sie keine von der jeweiligen chemischen Zusammensetzung abhängigen spezifischen Eigenschaften besitzt? Der von vielen Autoren vermutete *unspezifische* Oberflächeneffekt ist streng zu trennen von einer *spezifischen* Oberflächentoxizität durch physiko-chemische Eigenschaften, die unterschiedlicher Art sein können. Die spezifische Toxizität ist beim Quarzstaub naturgegeben, bei anderen Stäuben kann sie z. B. durch die Beschichtung mit organischen Siliziumverbindungen künstlich erzeugt werden, wie bei dem von uns geprüften hydrophoben TiO₂.

4.2 Dieselruß erfüllt die GBS-Definition, PAH-Gehalt nicht maßgebend

Dieselruß enthält neben dem anorganischen Rußkern einen von Fall zu Fall unterschiedlich großen Anteil (zwischen 10 und 50 %, vgl. Tab. 5 und 6) eines adsorbierten organischen Stoffgemischs. Darin sind zahlreiche im Prinzip kanzerogene polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (engl. Abk. PAH) enthalten. In den 70er und 80er Jahren wurden viele Forschungsprojekte über die Kanzerogenität einzelner PAH und Nitro-PAH, von PAH-Fraktionen und Kombinationen verschiedener PAH durchgeführt (IARC, 1983; Pott und Heinrich, 1992). Bei der Vielzahl der Einzelstoffe und der denkbaren Wechselwirkungen blieben selbstverständlich Fragen offen, die nicht geklärt werden konnten, denn weitere Forschungen zur Aufklärung von möglichen überadditiven Kombinationswirkungen und der Wirkung von wenig untersuchten PAH wurden finanziell nicht mehr unterstützt. Das hatte mehrere Ursachen, insbesondere die zwischenzeitlich stark gesunkenen PAH-Konzentrationen in der Umwelt infolge von Verbesserungen der vielfältigen Verbrennungsvorgänge, die Umstellungen von Heizungs-

anlagen und Verringerung der industriellen Emissionen, außerdem die Verbesserung von Arbeitsschutzmaßnahmen.

Aus den vorliegenden Ergebnissen können Schlussfolgerungen über den Wirkungsanteil des organischen Stoffanteils im Dieselruß gezogen werden. Nach den Berechnungen über Benzo[a]pyren als Referenzsubstanz liegt der Beitrag des organischen Stoffanteils an der kanzerogenen Wirkungsstärke von Dieselruß in der Rattenlunge bei 0,1 %, bei denkbaren zusätzlich stark wirksamen PAH in anderen PAH-Profilen und überadditiven Effekten lässt sich aus Vorsorgegründen 1 % annehmen. Selbst wenn man spekulativ einen Wirkungsanteil der löslichen Dieselrußbestandteile von 10 % voraussetzen würde, wäre das immer noch keine maßgebliche Erhöhung, die eine von den anderen GBS getrennte Einstufung und einen niedrigeren Grenzwert für Dieselruß als für die anderen GBS begründen würde. *Entscheidend ist, dass ein bio-beständiger anorganischer Rußkern in jedem Falle übrig bleibt, der bezüglich seiner Kanzerogenität als GBS zu bewerten ist.* Dieser Partikelkern hat sich in Inhalations- und Instillationsexperimenten als die Ursache der Lungentumoren durch Dieselruß bei der Ratte erwiesen. Die Ursache kann weder den gasförmigen Abgasbestandteilen und organischen Stoffen zugeschrieben werden, noch wird sie durch die organischen Stoffe – falls überhaupt – messbar verstärkt. Hierzu die Zitate der Schlussfolgerungen aus zwei Veröffentlichungen: *„Hence, in the context of the rat bioassay, diesel soot may also be considered a PSP“* (ILSI, 2000). *„PSP-associated organics do not add to the lung tumor response in rats“* (Oberdörster, 2002).

Ungenauigkeiten bei der Dosisangabe von Dieselruß in den Tierexperimenten kommen dadurch zustande, dass der organische Anteil im nativen Dieselruß nicht immer angegeben wurde und nicht bekannt ist, wie die Kinetik der Ablösung der organischen Stoffe in der Lunge verläuft. Grundlage für die Bewertung von Expositionen gegenüber Dieselmotoremissionen am Arbeitsplatz ist die Konzentration des elementaren Kohlenstoffs in der Partikelphase.

Die Frage, ob Dieselruß eher dem Feinstaub oder dem Ultrafeinstaub zuzurechnen ist, ist wegen der Entstehung unter verschiedenen Motor-Bedingungen nicht allgemein eindeutig zu beantworten. Im Motor entstehen nach Klingenberg *et al.* (1991) zunächst graphit-ähnliche Russteilchen, die sog. Kerne mit einem Durchmesser von rund 0,001 bis 0,01 µm. In einer zweiten Phase, der Koagulation, werden sie zu kugelförmigen Primärteilchen von etwa 0,01 bis 0,05 µm Durchmesser vergrößert. In einer dritten Phase agglomerieren die Primärteilchen zu losen Ketten mit räumlichen Verzweigungen. Der ganz überwiegende Teil des von uns verwendeten Dieselrußes lag nach EM-Aufnahmen von Rödelsperger nicht als UF-Partikeln vor, so dass wir ihn – auch aufgrund der Ergebnisse – den „kleinen“ GBS-F zugeordnet haben, die etwa 2½-mal schwächer wirksam waren als die GBS-UF. In den beiden Inhalationsversuchen, in denen Dieselruß und Furnace-Ruß-UF parallel geprüft wurden,

waren die Industrieruße etwas weniger als doppelt so tumorerzeugend wie die Dieselruße (Heinrich *et al.*, 1994; Nikula *et al.*, 1995; s. Tab. 5). Infolgedessen scheint Dieselruß im Hinblick auf die Kanzerogenität in der Rattenlunge in beiden Testmodellen bei den „kleinen“ GBS angemessen angesiedelt zu sein. Die stärkere Wirkung der „echten“ GBS-UF lassen sich auf einen raschen Zerfall der „riesigen“ Agglomerate in der Lunge zurückführen, die Rödelsperger *et al.* (2002) für den Ruß Printex 90 eindrucksvoll gezeigt haben. Beim Dieselruß läuft dieser Zerfall in Primärpartikeln höchstwahrscheinlich nicht so schnell oder kaum ab.

4.3 Mehr histologisch untersuchte Gewebsschnitte pro Lunge erforderlich, um kleine Tumoren mit höherer Wahrscheinlichkeit zu finden

Die Anzahl der Gewebsschnitte der Rattenlunge, die auf Tumoren und Tumorstufen untersucht werden, sollten bei zukünftigen Versuchen mit niedrigeren Dosen wesentlich erhöht werden, um auch beginnende Tumoren mit höherer Wahrscheinlichkeit zu erfassen.

Die unerwartet hohen Tumorfrequenzen in dem histologisch untersuchten Teil 1 (Kohlenstaubversuch) sind größtenteils durch die höhere Anzahl von Gewebsschnitten (10 bis 16 pro Lunge) gegenüber den 3 Schnitten des früheren Versuchs zu erklären (Pott *et al.*, 1994). In jenem Versuch waren nach Instillation von 45 und 60 mg TiO₂-F keine signifikant erhöhten Tumorfrequenzen gefunden worden (Tab. 6); die Makroskopie war nicht durchgängig zuverlässig.

Tumoren sind mikroskopisch als solche bereits diagnostizierbar, wenn sie eine Größe von etwa 0,2 mm erreicht haben. Die Wahrscheinlichkeit, sie mit drei nach einem bestimmten Verfahren gelegten Schnitten durch die Lungenlappen so zu treffen, dass sie diagnostizierbar sind, liegt bei wenigen Prozent. Die gefundenen Tumoren waren zwar in der Regel viel größer, haben aber selbstverständlich klein begonnen. Die Tendenz geht einerseits dahin, mit den Dosierungen näher an die realen Expositionen des Menschen heranzukommen oder die Grenzwerte zu unterschreiten. Andererseits verlängern niedrigere Dosen die Latenzzeit bis zur Entstehung eines Tumors. Die Nachweisgrenze für eine statistisch signifikant erhöhte kanzerogene Wirkung liegt bei einer Tumorfrequenz von etwa 10 % bei 50 exponierten Ratten, wenn die Kontrollgruppe tumorfrei ist, liegt also deutlich im nicht tolerierbaren Bereich. Infolgedessen ist es erforderlich, durch eine hohe Anzahl von Schnitten die Trefferwahrscheinlichkeit kleiner Tumoren und der Tumorstufen zu erhöhen, um sie mit hoher Wahrscheinlichkeit zu finden und damit die Empfindlichkeit des Testmodells zu verbessern.

4.4 Vergleich zwischen den kanzerogenen Wirkungsstärken von GBS im Inhalationstest und Instillationstest

Für einen Vergleich zwischen den beiden Testmodellen wurden diejenigen Inhalationsversuche mit GBS in Tab. 5 zusammengestellt, die mit Retentionsdaten nach etwa einjähriger Exposition veröffentlicht wurden. Die in den Veröffentlichungen angegebenen Staubmassenwerte wurden in Volumenwerte umgerechnet. Die älteren Instillationsversuche enthält Tab. 6. Die beiden Grafiken in Abb. 7 veranschaulichen die Lage aller Messpunkte mit beiden Testmethoden; auch die Ergebnisse aus Tab. 2 sind eingezeichnet. Abb. 8 zeigt eine Auswahl von möglichst gut vergleichbaren Ergebnissen mit beiden Versuchsmodellen. Aus der Abbildung ist ein

Faktor für den Unterschied von annähernd 4 ersichtlich; die Streubreite der Einzelwerte ist allerdings groß.

Um einen aussagekräftigen Unterschied zwischen den kanzerogenen Wirkungsstärken von GBS in den beiden Versuchsmodellen zu ermitteln, erfolgte eine Auswahl aus den heterogenen Experimenten in einer Weise, dass nach Möglichkeit Ergebnisse aus beiden Versuchsmodellen mit gleichen oder ähnlichen Stäuben zusammengestellt wurden und statistisch signifikant erhöhte Tumorfrequenzen aufgetreten sind. Es wurden Tumorfrequenzen möglichst nahe an 25 % bevorzugt (so dass die Werte dem Kehrwert der TD₂₅ vergleichbar sind). Sofern Wistar-Ratten verwendet wurden, handelt es sich um weibliche Tiere. Deshalb sind auch bei den Versuchen mit F344/N-Ratten für einen besseren Vergleich die Werte für die weiblichen Tiere eingetragen. In dem Toner-Inhalationsversuch mit weiblichen und männlichen F344-Ratten wurde nur die Tumorfrequenz für die Summe von beiden Geschlechtern veröffentlicht. Die Zahlenwerte für das Verhältnis Instillation / Inhalation wurden jeweils aus den Mittelwerten der Wirkungsstärke (Exzess-Lungentumorfrequenz pro µL retiniertes Staubvolumen) nach Instillation und nach Inhalation berechnet.

Als Bezugsgröße für die GBS-Dosis in den Inhalationsversuchen diente der Lungenstaubgehalt, der in den Experimenten nach etwa einem Jahr ermittelt worden war und jetzt in einen Volumenwert umgerechnet wurde. Die im zweiten Expositions-jahr zusätzlich retinierte Staubdosis hat für die Kanzerogenität keine erkennbare Bedeutung; darauf lassen Inhalationsexperimente mit mineralischen Fasern nach ein- und zweijähriger Exposition schließen (Pott und Roller, 1993).

Grundsätzlich ist bei Vergleichen von Tumorfrequenzen wie auch von anderen Wirkungen in Betracht zu ziehen, dass die Einzelergebnisse innerhalb einer großen Streubreite liegen, so dass das Verhältnis der Ergebnisse innerhalb einer kleinen Zahl von Versuchsgruppen leicht zu falschen Schlüssen führt. Beispiel für eine besonders schwache kanzerogene Wirkung von GBS-F ist der Inhalationsversuch mit Titandioxid von Lee *et al.* (1985) an Sprague-Dawley-Ratten, während das Experiment mit Talk mit Fischer-344-Ratten eine besonders starke Kanzerogenität ergab (NTP, 1993). Der Unterschied zwischen den weiblichen Tieren beträgt den Faktor 12 bezogen auf die Tumorfrequenz pro µL Staub in der Lunge. Vermutlich sind die Sprague-Dawley-Ratten weniger empfindlich als die Fischer- und Wistar-Ratten. Andere, unerklärte Einflüsse dürften an dem großen Unterschied beteiligt sein.

Ursache für die höhere Empfindlichkeit des Instillationstests ist die Verabreichung der Gesamtdosis innerhalb relativ kurzer Zeit, z.B. 10 wöchentliche Instillationen. Sie geschieht in einem Lebensalter, das dem Alter zwischen 7 und 14 Jahren des Menschen entsprechen würde, allerdings bei unterschiedlichem Reifegrad. Die Erfahrung zeigt, dass Kinder und Jugendliche empfindlicher auf die Krebsinduktion durch einige Agenzien reagieren als Erwachsene (Ebbesen, 1984). Die schnellere Zellproliferation in jungem Alter und die längere Einwirkungszeit in den Instillationsexperimenten mit GBS kombinieren sich. Die weniger gleichmäßige Partikelverteilung nach Instillation kann die Empfindlichkeit durch Ablagerung in größeren Staubagglomeraten („Sequester“) erniedrigen. Die Verteilung der Gesamtdosis auf viele instillierte Einzeldosen verringert diesen Effekt. Bemerkenswert ist, dass auch im Inhalationsexperiment die Partikelverteilung in der Lunge nicht gleichmäßig ist, sondern Ansammlungen von Staubteilchen durch ihre Eigenfarbe bereits makroskopisch auf der Lungenoberfläche deutlich erkennbar sind. Bei der Inhalation der Ratte gelangen größere Partikel zu einem kleineren Anteil in die Alveolen als beim Menschen und bei der Instillation.

(Fortsetzung mit **Abschnitt 4.5** auf Seite 27)

Tab. 5 - Inhalationsversuche zur Kanzerogenität von GBS-F und GBS-UF an verschiedenen Rattenstämmen

Stoff	Durchmesser [µm] ^a	Spezif. Oberfläche [m ² /g]	Dichte [g/mL]	Exposition		GBS-Dosis in Lunge				Ratten mit Lu.tum. [abs./untersucht, %]	Tum./retinierte GBS [%/µL] ^f	Literatur	
				[mg /m ³]	[h/Wo., 24 Mon.]	nach ca. 1 Jahr Exposition ^b			n.~2 J. [mg] ^e				
						[mg]	[µL] ^c	[µL/g] ^d					
Kohle	-	-	1,4 ^g	200	5 x 5	43	31	18	96	4 / 36	11	0,35	Martin <i>et al.</i> , 1977
				0	-	♀ Spr.-Dawley		-	-	0 / 6	0 ^h	-	
TiO ₂ Rutil	MMAD 1,5-1,7 (equival. mit ~0,8 geom. Durchm.)		4,26 ⁱ	10	5 x 6	♀ 8,7	2,0	0,87	32	1 / 75	1,3	Lee <i>et al.</i> , 1985, 1986	
						♂ 10,1	2,4	0,73	21	2 / 71	2,8		
				50	5 x 6	♀ 60	14	6,0	130	0 / 74	0		0
						♂ 76	18	5,5	118	1 / 75	1,3		
				250	5 x 6	♀ 382	90	38	546	26 / 74	35		0,39
						♂ 362	85	26	785	13 / 77	17		0,17
Kontrolle	-	-	-	0	-	♀ Spr.-Dawley		-	-	0 / 77	0	-	
						♂ Spr.-Dawley		-	-	2 / 79	2,5	-	
Dieselmotor-emissionen, ~12 % org. Stoffe	MMAD ~ 0,25 0,01-10		1,85 ^k	0,35	5 x 7	♀♂ 0,24	0,13	0,09	0,6	3 / 223	1,3	Mauderly <i>et al.</i> , 1987; Cheng <i>et al.</i> , 1984; Wolff <i>et al.</i> , 1987; Nikula, 2000	
				3,5	5 x 7	♀♂ 2,18	1,18	0,79	11,5	8 / 221	3,6 ^m		2,3
				7,1	5 x 7	♀♂ 7,29	3,94	2,63	20,5	29 / 227	12,8		3,0
Kontrolle	-	-	-	0	-	♀♂ F344/Crl		-	-	2 / 230	0,9	-	
Toner (gleicher Typ wie im Instillationsversuch)	MMAD ~ 4, geom. SD 1,5; MW 3,5	3,6	1,2	0,35	5 x 6	♀ 0,12 ⁿ	0,1	0,1	0,19	1 / 112	0,9	-	Muhle <i>et al.</i> , 1991; Bellmann <i>et al.</i> , 1991
						♂ 0,16 ⁿ	0,13	0,09	0,24			-	
				1,5	5 x 6	♀ 0,69 ⁿ	0,57	0,55	1,41	0 / 114	0	0	
						♂ 1,03 ⁿ	0,85	0,60	2,05			0	
				5,4	5 x 6	♀ 5,32 ⁿ	4,4	4,3	13,0	5 / 114	4,4 ^p	p	
						♂ 8,7 ⁿ	7,3	5,1	18,1			-	
TiO ₂ Rutil	MMAD 1,1		4,3	3,9	5 x 6	♀ 1,4 ⁿ	0,33	0,32	2,24	2 / 113	1,8	-	
						♂ 1,8 ⁿ	0,42	0,30	3,20			-	
Kontrolle	-	-	-	0	-	♀♂ F344		-	-	3 / 111	2,7	-	
Talk	MMAD 2,7-3,2		2,8 ^q	6	5 x 6	♀ 4,7 ^r	1,7	1,7	9,1 ^r	0 / 48	0	0	NTP, 1993
						♂ 4,4 ^r	1,6	1,6	10,5 ^r	1 / 50	2	-	
				18	5 x 6	♀ 14 ^r	5,1	5,1	29,4 ^r	13 / 50	26	4,7 ^q	
						♂ 21 ^r	7,5	7,5	24,2 ^r	1 / 50	2	-	
Kontrolle	-	-	-	0	-	♀ F344/N		-	-	1 / 50	2	-	
						♂ F344/N		-	-	0 / 49	0	-	

Stoff	Durchmesser [µm] ^a	Spezif. Oberfläche [m ² /g]	Dichte [g/mL]	Exposition		GBS-Dosis in Lunge				Ratten mit Lu.tum. [abs./untersucht, %]	Tum./retinierte GBS [%/µL] ^f	Literatur		
				[mg /m ³]	[h/Wo., 24 Mon.]	nach ca. 1 Jahr Exposition ^b			n.~2 J. [mg] ^e					
						[mg]	[µL] ^c	[µL/g] ^d						
Ruß Printex 90	0,014 MMAD 1.1	230	1,85	6	10 Mon. ^s	15,4	8,3	5,5		12 / 72	17	2,0	Heinrich <i>et al.</i> , 1994	
					20 Mon. ^s	15,4	8,3	5,5		7 / 72	9,7	1,2		
NO ₂ + SO ₂ + Formaldehyd	–	–	–	5 + 5 + 3 ppm	10 Mon. ^s	♀ <i>Wistar</i>			–	–	1 / 72	1,4		–
					20 Mon. ^s				–	–	0 / 72	0		–
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	–	–	–	–	0 / 72	0	–		
Ruß Print. 90 ^t	0,014 ^u	227	1,85	7-12 ^v	5 x 18	38	20,5	14	44	39 / 100	39	1,9	Heinrich <i>et al.</i> , 1995	
TiO ₂ P25	0,021 ^u	48	3,8	7-15 ^w	5 x 18	35	9,2	6,1	39	32 / 100	32	3,4		
Dieselmotor- emissionen, ~40 % org. Stoffe	MMAD 0,25, 0,015-16	Nativ 18 Extrakt 96-130	1,85 ^k	0,8	5 x 18	2,8	1,5	1,0	6,3	0 / 198	0	0		
					2,5	5 x 18	11	5,9	4,0	24	11 / 200	5,5		0,8
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	♀ <i>Wistar</i>		–	–	1 / 217	0,5	–		
Ruß Elftex-12, furnace black	< 0,05 ^x		1,85 ^y	2,5	5 x 16	♀	6,2	3,4	2,2	17	8 / 107	7,5	2,2	Nikula <i>et al.</i> , 1995
				2,5	5 x 16	♂	7,9	4,3	2,8	25	2 / 106	1,9		
				6,6	5 x 16	♀	12	6,5	4,3	37	28 / 105	27	4,1	
				6,6	5 x 16	♂	15	8,1	5,4	40	4 / 106	3,8		
Dieselmotor- emiss., Anteil organ. Stoffe nicht genannt			1,85 ^k	2,4	5 x 16	♀	9,8	5,3	3,5	36	8 / 105	7,6	1,4	
				2,4	5 x 16	♂	12	6,5	4,3	45	5 / 105	4,7	–	
				6,3	5 x 16	♀	21	11	7,6	81	29 / 106	27	2,5	
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	♀ <i>F344/N</i>		–	–	0 / 105	0	–		
				0	–	♂ <i>F344/N</i>		–	–	3 / 109	2,8	–		
Dieselmotor- Emissionen			1,85 ^k	3,5 ± 1,4	3 x 17h					0 / 48 ^z		0	0	Iwai <i>et al.</i> , 2000
					3 Mon.	1,35	0,7	0,49		6 / 43 ^z	14,0			
					6 Mon.	2,3	1,2	0,83		19 / 47 ^z	40,4			
					9 Mon.					10 / 44 ^z	22,7	8,6		
<i>Kontrolle</i>	–	–	–	0	–	♀ <i>F344</i>		–	–	1 / 48	2,1	–		

Fußnoten zu Tab. 5

- ^a Entweder MMAD (mass median aerodynamic diameter), zum Teil mit Angabe des Bereichs, oder mittlerer Durchmesser von Primärteilchen oder von Agglomeraten /-Aggregaten.
- ^b Diese Dosis repräsentiert von den verfügbaren Daten die wirksame Dosis wahrscheinlich am ehesten. Daher konnten nur diejenigen Versuche in die Tabelle aufgenommen werden, für die ein solcher Wert angegeben war oder sich als Mittelwert errechnen ließ.
- ^c Aus der Staubmasse und der Dichte berechnet.
- ^d Das Staubvolumen pro g Lunge ist in Bezug auf den Grenzwert der MAK-Kommission von 1 µL/g Lunge (Greim, 1997) von Bedeutung. Die Werte in dieser Spalte geben den Faktor an, um den die GBS-Beladung der Lunge den Grenzwert übersteigt. Bei der Berechnung des Staubvolumens pro g Lunge wurde in den meisten Fällen davon ausgegangen, dass das Frischgewicht der unbehandelten Rattenlunge etwa 1,5 g beträgt (Greim, 1997).
Ausnahmen: Kohle 1,68 g, TiO₂ Sprague-Dawley weibl. 2,35 g, männl. 3,25 g (Lee *et al.*, 1985); im Talk-Experiment (NTP, 1993) wurde das Staubvolumen bereits pro µL/g Lunge angegeben (s. Fußnote), im Toner-TiO₂-Experiment (Bellmann *et al.*, 1991; Muhle *et al.*, 1991) wurde es nach den Angaben der Lungengewichte für die Kontroll-Lungen als Mittelwerte der Daten nach 9 und 15 Monaten berechnet.
- ^e Die nach 2 Jahren gefundene Staubmasse ist als zusätzliche Information angegeben, ohne dass angenommen werden kann, dass die im zweiten Expositionsjahr zusätzlich retinierte Staublast einen deutlichen Anteil an der Tumorfrequenz erzeugt. Inhalationsexperimente mit Asbest ließen keinen Unterschied zwischen den Tumorfrequenzen nach ein- und zweijähriger Exposition erkennen (Pott und Roller, 1993). Der am Schluß der Tabelle aufgeführte Versuch von Iwai *et al.* (2000) weist in die gleiche Richtung. Gleichwohl ist durch das zweite Expositionsjahr mit verstärkenden entzündlichen und fibrogenen Reaktionen zu rechnen, da diese in kurzer Zeit entstehen können.
- ^f Die Tumorfrequenz in % pro µL GBS in der Lunge kann als ein Maß für die kanzerogene Potenz eines Staubes in der Versuchsgruppe verwendet werden und Vergleiche zwischen den kanzerogenen Wirkungsstärken der Versuchsgruppen vereinfachen, sofern die spontane Tumorfrequenz deutlich unter 1 % liegt wie bei Wistar-Ratten. Zur Berechnung wurden die Tumoren der jeweiligen Kontrollgruppe abgezogen; dieses Verfahren führt bei niedrigen Tumorfrequenzen in einer exponierten Gruppe, kleinen Gruppengrößen und mehr als 1 % Tumoren in der Kontrollgruppe zu größeren Unsicherheiten. Daher sind die Ergebnisse nur zum Teil eingetragen. Wegen der deutlich größeren Lungengewichte von Sprague-Dawley-Ratten müssten für einen Vergleich der Rattenstämme die Tumorfrequenzen zum GBS-Volumen pro Gramm Lunge in Beziehung gesetzt werden. Auf dieser Grundlage ist die kanzerogene Wirkungsstärke von TiO₂-F in dem Versuch von Lee *et al.* (1985) nur noch um den Faktor von etwa sechs schwächer als die von TiO₂-UF in dem Versuch von Heinrich *et al.* (1995).
- ^g Nach Angabe für Kohlenstäube in Tab. 1.
- ^h Nur 6 Lungen histologisch untersucht, daher keine signifikant erhöhte Tumorfrequenz in der exponierten Gruppe. Unter 485 Tieren makroskopisch kein Lungentumor.
- ⁱ Nach Weast *et al.* (1989).
- ^k In Analogie zum Industrieruß wird für die Berechnung des Volumens eine Dichte von 1,85 angenommen, obwohl der Einfluß auf die Dichte des von Dieselruß zu Dieselruß unterschiedlichen Anteils der organischen Stoffe nicht klar ist.
- ^m Signifikant höher als Kontrolle (p <0,05); Tierzahlen pro Gruppe annähernd gleich auf beide Geschlechter verteilt.
- ⁿ Mittelwert aus den Messungen nach 9 und 15 Monaten.
- ^p Aus dem Gesamtversuch lassen sich 4 Gruppen zu einer Gesamtzahl von 450 Ratten einschließlich der nach 21 Monaten getöteten Tiere zusammenfassen, die nach Exposition im Mittel zwischen 9 und 15 Monaten und zwischen den beiden Geschlechtern nur ein etwa 8 bis 50mal niedrigeres Staubvolumen pro Gramm Lunge aufwiesen als die relativ hoch exponierte Tonergruppe mit 4,7 µL/g Lunge: Kontrolle, TiO₂ (0,31 µL), Toner niedrig (0,1 µL) und Toner mittel (0,57 µL). Unter diesen 450 Ratten wurden 6 Tiere mit Lungentumor gefunden (1,33 %). Die etwa achtmal höhere Volumendosis in der Gruppe *Toner hoch* ist mit 5 Tumortieren unter insgesamt 114 (4,4 %) assoziiert. Der Unterschied zwischen diesen beiden Kollektiven ergibt ein um 3 Prozentpunkte höheres Risiko der am höchsten exponierten Tonergruppe, und ein relatives Risiko von 3,3. Der p-Wert für diesen Unterschied beträgt 0,0507 (Fisher's exact test, einseitig); er ist damit formal statistisch nicht signifikant. Bei 6 statt 5 Tumortieren von 114 ergäbe sich ein p-Wert von 0,0192, bei 5 Tumortieren von 113 anstatt von 114 exponierten Ratten ein p-Wert von 0,494. Die Signifikanz ist somit im Grenzbereich. Auch nach dem Trendtest lag die Tumorfrequenz für die obere Tonerdosis an der Grenze der statistischen Signifikanz (p = 0,049). Für die Beurteilung eines statistisch nicht signifikanten Unterschieds zwischen exponierter und Kontrollgruppe sind die *Zehn Merksätze zur Interpretation von „negativen“ Studien in der arbeitsmedizinischen Epidemiologie* von Weitowitz *et al.* (1996) anzuwenden.
- ^q Nach Ramdohr und Strunz (1967).
- ^r Die veröffentlichten Werte beziehen sich bereits auf das Frischgewicht von 1 g Lunge der Kontrollratten.
- ^s Expositionszeit pro Woche 5 Tage je 17 h.
- ^t 0,04 % der Masse extrahiert im Vergleich zu 40 % bei Dieselruß mit der gleichen Methode. Mittelwerte pro mg Printex 90: 0,6 pg Benzo[a]pyren (Dieselruß 3,9 ng), 1-Nitropyrene <0,5 ng/mg, (Dieselruß 19,1 ng/mg).
- ^u In Vorversuchen lagen die *mass median aerodynamic diameter (MMAD)* von TiO₂ und Ruß durch die Agglomeration der Primärpartikeln bei etwa 1,5 µm. Um die Deposition in den terminalen Atemwegen zu erhöhen, wurden die größeren Partikeldurchmesser durch einen Zyklon abgeschieden, so dass MMADs von 0,8 µm (TiO₂) und 0,64 (Ruß) entstanden.
- ^v Mittlere Expositionskonzentrationen: 4 Mon. 7,4 mg/m³; 20 Mon. 12,2 mg/m³.
- ^w Mittlere Expositionskonzentrationen: 4 Mon. 7,2 mg/m³; 4 Mon. 14,8 mg/m³; 16 Mon. 7,2 mg/m³.
- ^x Korngröße nicht angegeben. Es kann davon ausgegangen werden, dass der mittlere Durchmesser der Primärteilchen dieses in den USA hergestellten Rußes deutlich unter 0,050 µm liegt, denn die mittleren Durchmesser der von Degussa produzierten Furnaceruße sind im Bereich von 0,014 bis 0,056 µm angegeben (Degussa, 1994).
- ^y Dichte nicht genannt. Degussa (1994) gibt als Dichte für die dort produzierten Ruße allgemein den Bereich von 1,8 bis 1,9 g/mL an, daher wird von 1,85 g/mL ausgegangen.
- ^z 182 der 192 Ratten der vier exponierten Gruppen überlebten länger als 18 Monate, 35 (19 %) entwickelten zumindest 1 Lungentumor. Die Tierzahlen pro Gruppe betreffen Ratten, die mehr als 18 Monate überlebten.

Tab. 6 - Instillationsversuche zur Kanzerogenität von GBS-F und GBS-UF an weiblichen Ratten, meist Wistar Ratten

Stoff	Mittl. Durchmess. [μm] ^a	Spezif. Oberfl. (BET) [m^2/g]	Dichte [g/mL]	Dosis intratracheal		GBS-Volumen in Lunge		Ratten mit prim. Lungentum. [abs. /unter sucht, %]	Tum./retinierte GBS [%/ μL] ^d	Literatur
				wöchentl. Instill. x mg	Volum. [μL] ^a	gesamt [μL] ^b	[$\mu\text{L}/\text{g}$ Lunge] ^c			
Aktivkohle			1,4 ^e	10 x 1	7,1	4,8	3,2	11 / 23 ^f 48	10	Kawabata <i>et al.</i> , 1986
Dieseruß			1,85 ^g	10 x 1	5,4	3,6 ^h	2,4 ^h	31 / 42 ^f 74	21 ^h	
Trägerflüssigkeit			–	10 x 0,2 mL	–	♀ F344		1 / 23 ^f 4,3	–	
Unbehandelt			–	–	–			0 / 50 ^f 0	–	
Magnetit			5,18 ^l	15 x 15	43	29	19	25 / 34 69	2,4	Pott <i>et al.</i> , 1987
NaCl-Lös.	–	–	–	20 x 0,3 mL	–	–	–	0 / 40 0	0	
Hämatit		2,5	5,24 ^l	15 x 10	29	19	13	18 / 34 53	2,8	Pott <i>et al.</i> , 1994; Pott and Roller, 1994
Magnetit		7,0	5,18 ^l	5 x 10	9,7	6,4	4,3	9 / 36 25	3,9	
				15 x 10	29	19	13	25 / 37 68	3,6	
Aktivkohle		860	1,4 ^e	10 x 3	21	14	9,5	10 / 37 27	1,9	
				20 x 3	43	29	19	14 / 39 36	1,2	
TiO ₂ Anatas	0,25	9,1	3,84 ^l	15 x 3	12	7,8	5,2	2 / 39 5,1	0,65	
TiO ₂ Rutil		5,2	4,26 ^l	20 x 3	14	9,4	6,3	1 / 39 2,6	0,28	
SiC		6,1	3,22 ^l	20 x 3	19	12	8,3	4 / 36 11	0,92	
Dieseruß, LKW		34 ^k	1,85 ^g	15 x 3	24	16 ^h	11 ^h	26 / 40 65	4,1 ^h	
Dieseruß, D.-Benz	0,2		1,85 ^g	10 x 3	16	11 ^h	7,0 ^h	35 / 58 60	5,5 ^h	
				20 x 3	32	21 ^h	14 ^h	25 / 38 66	3,1 ^h	
Ruß Print. 90	0,014	270	1,85	15 x 3	24	16	11	24 / 37 65	4,1	
NaCl-Lös.	–	–	–	15 x 0,4 mL	–	–	–	0 / 39 0	0	
NaCl-Lös.	–	–	–	20 x 0,4 mL	–	–	–	0 / 40 0	0	
Dieseruß, orig.		12	1,85 ^g	ges. 15 mg ^m	8,1	5,4 ^h	3,6 ^h	8 / 48 17	3,1 ^h	Dasenbrock <i>et al.</i> , 1996
Dieseruß, extrahiert ⁿ		138	1,85 ^g	ges. 15 mg ^m	8,1	5,4	3,6	2 / 48 4,2	0,78	
				ges. 30 mg ^m	16,2	11	7,2	10 / 48 21	1,9	
Ruß, 101, extrahiert ⁿ	0,095	22	1,85	ges. 15 mg ^m	8,1	5,4	3,6	4 / 48 8,3	1,5	
Ruß Print. 90, extrahiert ⁿ	0,014	271	1,85	ges. 15 mg ^m	8,1	5,4	3,6	11 / 48 23	4,3	
NaCl-Lös., 0,25 % Tween 80	–	–	–	3 x 0,2 mL, 13 x 0,3 mL	–	–	–	0 / 47 0	0	

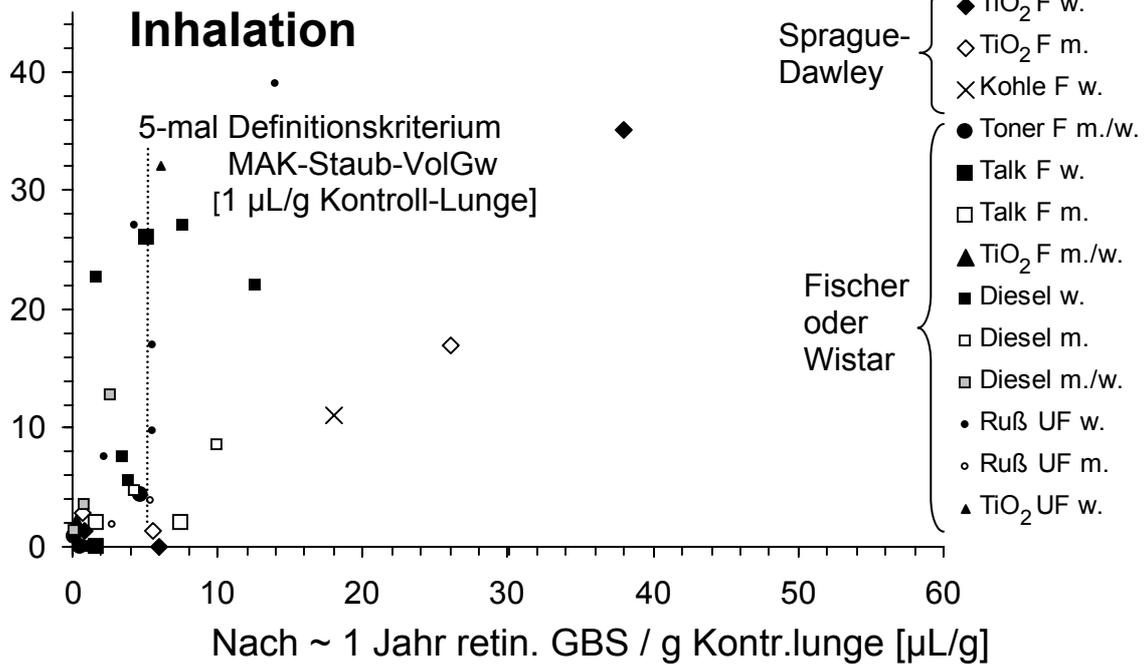
(Fußnoten s. nächste Seite)

Tab. 6 - Fußnoten

- ^a Berechnet aus Partikelmasse und Dichte.
- ^b Der Anteil der GBS-Dosis, die in der Lunge längerfristig verbleibt, wird im Mittel mit 2/3 der instillierten Dosis angenommen.
- ^c Berechnet unter der Annahme eines mittleren Lungengewichts der Kontrolltiere von 1,5 g. Der Wert zeigt den Faktor an, um den der GBS-Gehalt der Lungen höher liegt als der VolGw.
- ^d Maß für die kanzerogene Potenz eines Staubes in der betreffenden Versuchsgruppe.
- ^e Dichte von Kohle angenommen, da keine Angabe für die Dichte von Aktivkohle verfügbar.
- ^f Anzahl Ratten, die mindestens 18 Monate überlebten.
- ^g Dichte in Analogie zu Ruß angenommen.
- ^h Die Berechnung berücksichtigt nicht, dass nur der Kohlenstoffkern biobeständig ist. Infolgedessen ist zu erwarten, dass die retinierte Partikelmasse geringer ist und der Effekt pro μL Partikeln entsprechend höher. In dem Experiment von Dasenbrock *et al.* (1996) waren 47 % der Masse extrahierbar; falls dieser Anteil in der Lunge gelöst wird, errechnet sich die doppelte Wirkung pro μL Ruß.
- ⁱ Nach Weast *et al.* (1989)
- ^k Gleiche Herkunft wie der Dieselruß aus dem aktuellen Versuch, aber die BET-Oberfläche, die 1987 gemessen wurde, war deutlich größer als das Ergebnis von 2001. Eine Heterogenität von Dieselruß-Oberflächen lässt sich auch an anderen Beispielen zeigen; aber auch beim Industrie-Ruß Printex 90 wurden Werte zwischen 227 und 337 m^2/g gemessen.
- ^m 16 – 17 Instillationen ungleicher Einzeldosen.
- ⁿ Dreimal 30 Min. Extraktion mit kochendem Toluol. 47 % der Masse wurden vom Dieselruß extrahiert, bei den beiden Industrierußen < 0,1 %.

(Fortsetzung des Textes mit **Abschnitt 4.5** auf Seite 27)

% Ratten mit Lungentumor



% weibl. Wistar-Ratten mit Lungentumor

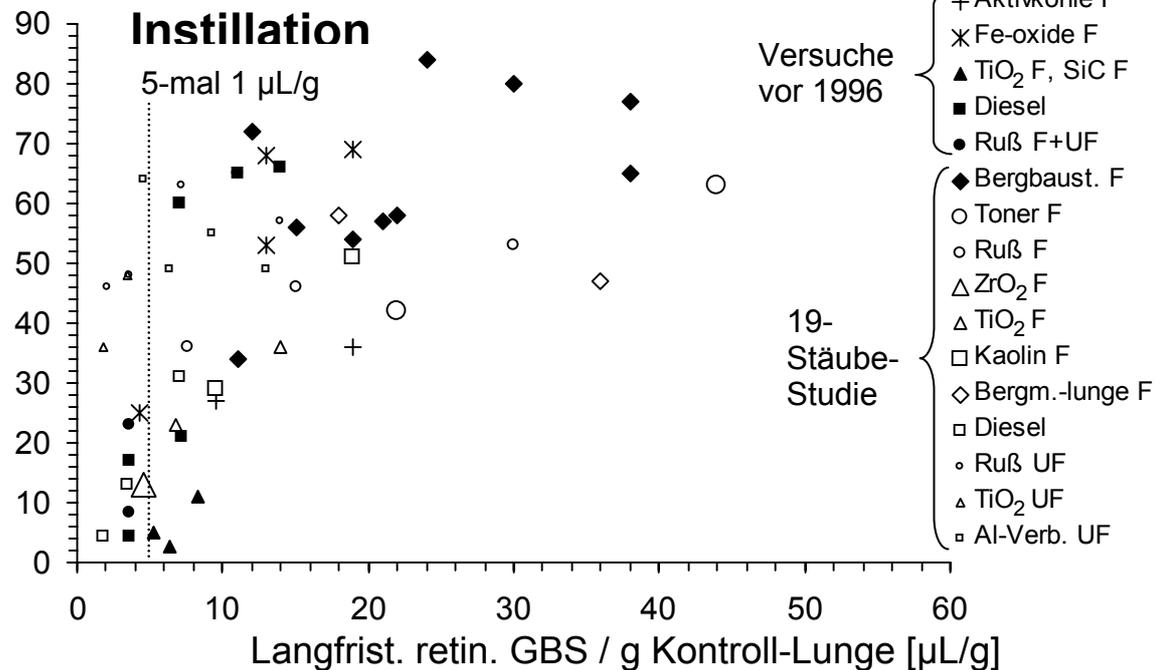


Abb. 7 - Beziehungen zwischen Lungenstaubdosis und Lungentumorhäufigkeit der in den Tabellen 2, 5 und 6 aufgeführten Experimente (Daten aus Teil 2 der 19-Stäube-Studie nur makroskopische Tumordiagnosen). Bei nur geringfügiger Überschreitung des Volumengrenzwertes der MAK-Kommission (eingezeichnet: Faktor 5) ist sowohl nach Inhalation als auch nach intratrachealer Instillation bei Ratten mit einem Lungentumorrisiko im Prozentbereich zu rechnen.

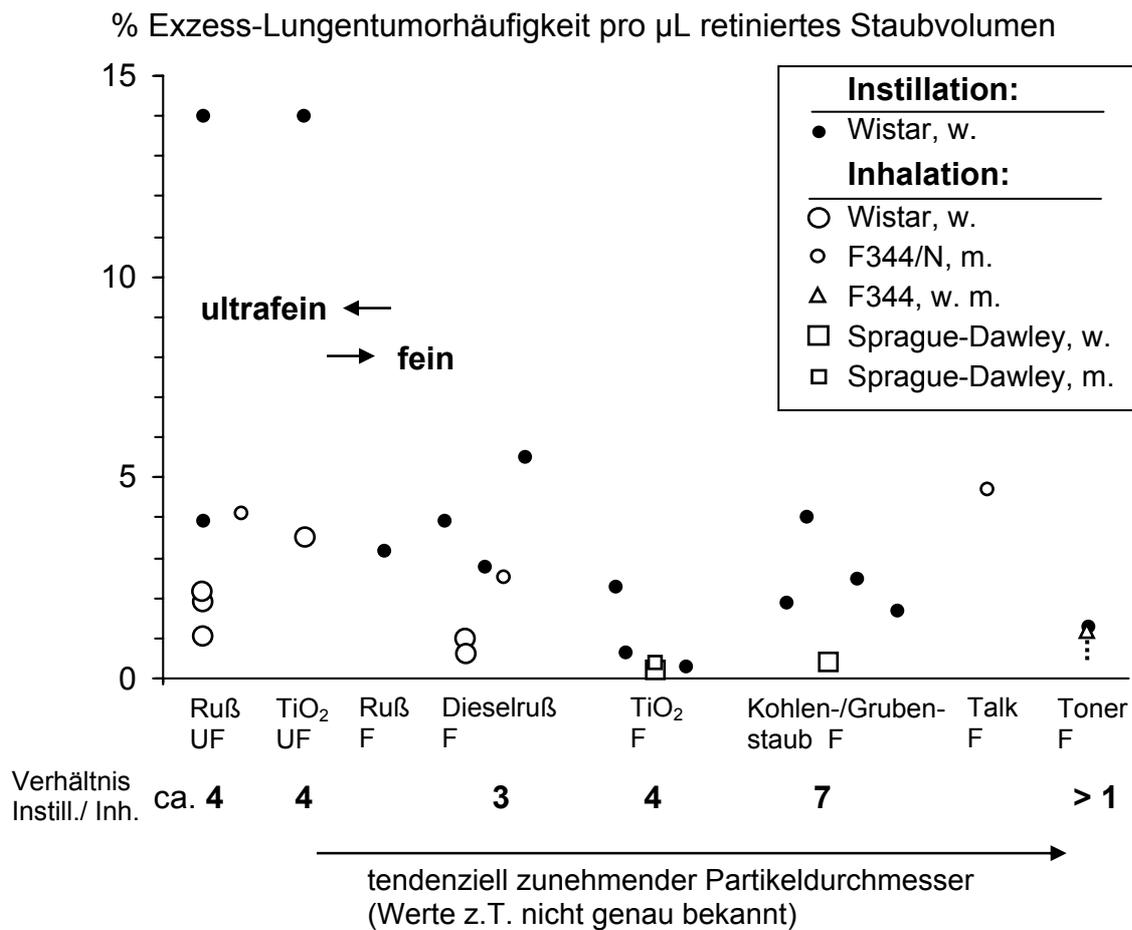
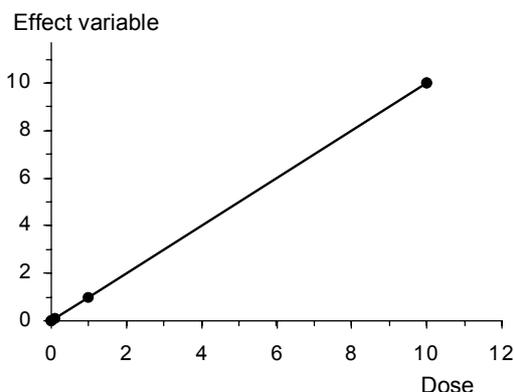
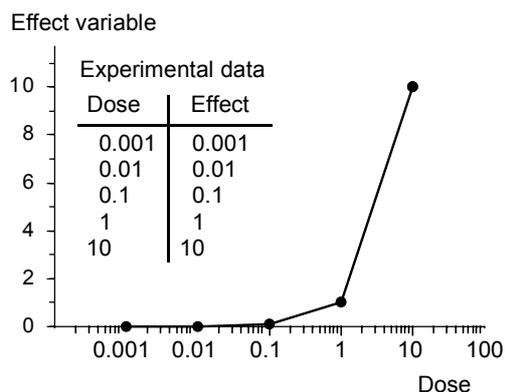


Abb. 8 - Kanzerogene Wirkungsstärke von GBS in Inhalations- und Instillationsexperimenten zum Vergleich. Kriterien für die Auswahl der Versuche aus den zahlreichen in den Tabellen 2, 5 und 6 aufgelisteten Experimenten siehe Text. Die Abhängigkeit vom Partikeldurchmesser kann nur semiquantitativ angegeben werden, da die Werte zum Teil nicht genau angegeben sind.

4.5 Irreführungen in maßgebenden Veröffentlichungen, die zur falschen Interpretation einer Wirkungsschwelle oberhalb des Allgemeinen Staubgrenzwertes führten

In Diagrammen, in denen Beziehungen zwischen Dosis und Wirkung dargestellt werden, lässt sich der subjektive Eindruck über den Verlauf durch die Einteilung der Dosis-Achse mit einem logarithmischen Maßstab entscheidend beeinflussen. Die Art der Darstellung suggeriert bereits eine bestimmte Interpretation der gezeigten Daten, der sich der Betrachter schwer entziehen kann. Hierdurch wird unabhängig von der tatsächlichen Datenlage aus linearen oder bis zu einem gewissen Grade hyperlinearen Dosis-Wirkungsbeziehungen immer der unzutreffende Eindruck von sublinearen Dosis-Wirkungsbeziehungen erzeugt und die Evidenz für das Vorliegen einer Wirkungsschwelle vorgetäuscht (Roller, 1998; 2003b). Auch dem geübten Betrachter solcher Diagramme fällt es schwer, diesen falschen Eindruck im Kopf ohne Skizze korrekt umzuwandeln. Das folgende mathematisch aufgebaute Beispiel zeigt im oberen und unteren Bildteil lineare Dosis-Wirkungsbeziehungen mit den gleichen Daten, aber der obere Bildteil erweckt den falschen Eindruck einer Wirkungsschwelle.



Diese Art der Darstellung betrifft z. B. Grafiken von Oberdörster (1995, 1996, 2002), Driscoll (1996) und Miller (2000), in denen die Autoren ihre Diagramme dazu verwendeten, eine Schwelle als plausibel zu interpretieren, auch wenn die Regressionsanalyse zu einer hyperlinearen Funktion geführt hat und dies in

einer Grafik mit linearem Dosismaßstab zu erkennen ist. Auch die Beziehungen zwischen dem Prozentsatz an neutrophilen Zellen (PMN) in der Lungenspülflüssigkeit – als Dosismaß – und der Wirkung können den Eindruck einer Wirkungsschwelle hervorrufen, weil der Anteil der PMN in der gesamten Zellpopulation 70% aus pathophysiologischen Gründen praktisch nie übersteigt, während die absoluten Zellzahlen einen linearen Anstieg mit der Staubmenge zeigen. Eine Veröffentlichung von Driscoll *et al.* (1997) ist durch die einseitige Darstellung und den fehlenden Hinweis auf diese Verhältnisse auch von den Autoren zur Unterstützung der Schwellenhypothese für die Mutagenität von Stäuben angeführt worden. Diese Fehlinterpretation fand große anerkennende Resonanz auf irreführender Grundlage.

Ein anderer wichtiger fehlinterpretierter Versuch ist das umfangreiche Inhalationsexperiment mit Toner und Titandioxid von Bellmann *et al.* (1991) und Muhle *et al.*, (1991). Es enthält eine Beurteilung des Toners, die sich aus den Daten nicht ableiten lässt: *“This outcome provides a clear demonstration of the lack of carcinogenicity of the toner, an innocuous, benign dust”*. Diese Arbeit hat gemeinsam mit den oben zitierten Veröffentlichungen über viele Jahre die allgemeine Meinung über die Kanzerogenität von GBS-F stark dahingehend geprägt, dass es selbst bei der für besonders empfindlich gehaltenen Ratte unter Overload-Bedingungen keine Anzeichen für eine krebserzeugende Wirkung nach Exposition im Bereich des Allgemeinen Staubgrenzwertes gäbe.

In der Beurteilung von 1991 heißt es: *“The comparable lung tumor frequencies observed for the three different toner exposure and the air-only and TiO₂ controls clearly demonstrate that toner inhaled over most of the life span of F-344 rats under strictest international guidelines for chronic toxicity/carcinogenicity evaluation is not tumourigenic for the respiratory system.”* Die Tumorfrequenzen der Kontrollgruppe und der höchsten Toner-Dosisgruppe können zwar miteinander verglichen werden (2,7 % zu 4,4 %), aber nicht mit dem Ergebnis, sie seien *als annähernd gleich* zu bewerten, denn erstens wäre ein Exzess-Risiko von 1,7 % – falls statistisch signifikant – *nennenswert*, und zweitens müssen die anderen Versuchsgruppen in den Vergleich eingeschlossen werden. Dies zeigt weiter unten die Analyse der in Tab. 5 referierten Versuchsdaten.

Es trifft auch nicht zu, dass die internationalen Richtlinien für chronische Toxizitäts/Kanzerogenitätsstudien in der Toner-Studie *“strictest”* eingehalten wurden. Es wird der Eindruck erweckt, die Kriterien für die *Maximum tolerated dose* (MTD) hätten sich bei der EPA erheblich verändert: *“...provisional U.S. Environmental Protection Agency policy recognized that a 10 % target organ weight increase meets the criteria”* (Bellmann *et al.*, 1991). Zitiert wird aus einem Nachrichtenblatt (Chemical Regulation Reporter May 9, 1986: 158). Die Guidelines der EPA enthielten jedoch weder zu jener Zeit noch später eine entsprechende Äußerung (EPA, 1986; 1998). Ein solches Kriterium für die MTD wäre ein sicherer Weg, um eine relevante Kanzerogenität zu übersehen und ein falsch negatives Ergebnis zu erzeugen. Dies wird im Rückblick auf die Lebensverkürzung durch eine schwere Lungensilikose beim Menschen evident, die früher auch in Deutschland häufig auftrat und in unserem Experiment mit einer Verdreifachung des Lungengewichts noch nicht festzustellen war. Ein messbar lebensverkürzender Fibrosegrad lässt sich mit GBS bei Ratten nicht induzieren, eher würden die Tiere an dem großem Staubvolumen ersticken. Die Erfahrung, dass beruflich Belastete an einer Lungenfibrose durch Quarz- oder Asbeststaub oder auch am Lungenkrebs durch diese Stäube sterben können, ist ein wichtiges Kriterium für die Wahl der Dosis im Rattenversuch. Zu *Dose levels and dose selection* heißt es in den Health Effects Test Guidelines Carcinogenicity (EPA, 1998): *“A rationale for the doses selected must be provided. The*

highest-dose level should elicit signs of toxicity without substantially altering the normal life span due to effects other than tumors.“

Aus dem gesamten Zusammenhang folgt, dass eine schwere Lungenfibrose durch Stäube bei Ratten, die der Todesursache eines Bergmanns mit Silikose oder dem eines Asbestarbeiters mit Asbestose gleichkommt, nicht als Überschreitung der MTD für eine Kanzerogenitatsprufung angesehen werden kann, obwohl sie eine „minimale Toxizität“ zweifellos erheblich überschreitet. Dieser Sachverhalt spricht auch gegen die Empfehlung einer sog. *Maximum functionally tolerated dose* (MFTD) als Kriterium für die höchste zu verabreichende Dosis, die eine Verlängerung der Halbwertszeit für die alveoläre Lungenreinigung bei der Ratte um den Faktor 2 bis 4 nicht überschreiten soll (Muhle *et al.*, 1990; Oberdörster, 1995). Daher ist auch der von McConnell (1996) beschriebenen Entwicklung entgegen zu wirken: *“It is becoming accepted that exposures that “overload” the lungs’ ability to clear the particulate in a normal way would, by definition, represent a dose that exceeds the MTD.”* Hier wird die fragwürdige Overload-Hypothese (s. 4.9.1) zur Barriere für den Nachweis oder die Anerkennung einer kanzerogenen Wirkung.

Allen Empfehlungen von Expositionsbeschrankungen auf eine Höhe, die den Grenzwert nicht wesentlich überschreiten soll, ist entgegenzuhalten, dass die erzeugten Tumorzahlen bei den üblichen Versuchsgroen rund 10 % übersteigen müssen, oder die Tierzahlen des Versuchs würden unbezahlbare Größen erfordern, um ein niedrigeres zusätzliches Risiko (Exzess-Risiko) statistisch zu sichern (s. 4.8). Infolgedessen sind Risikoabschätzungen in den nicht prüfbaren Bereich hinein nach begründeten Methoden notwendig, um die Kluft zwischen den experimentellen Ergebnissen nach erhöhter Exposition und arbeitsplatz-typischen Expositionen zu schließen, anstatt mögliche und wahrscheinliche Krebsrisiken durch Expositionen zu verschleiern, die bereits im Prozentbereich liegen oder liegen können.

Die Toner-Studie ist ein Beispiel für eine unterdosierte Kanzerogenitätsstudie, die ein eindeutig positives Ergebnis nur bei einer höheren Dosis, oder einer noch höheren kanzerogenen Potenz, oder mit einer erheblich höheren Tierzahl ergeben konnte. Daher sind die Ergebnisse jetzt im Grenzbereich der statistischen Signifikanz zu interpretieren. Unser eindeutiger Nachweis einer kanzerogenen Tonerwirkung im Intratrachealtest spricht dafür, den Inhalationstest als *wahrscheinlich positiv* zu beurteilen. Die Tumorzahlen in der Kontrollgruppe lag mit 2,7 % deutlich höher als das Mittel von 0,9 % in den drei niedrig exponierten Versuchsgruppen, während 4,4 % Tumortiere in der am höchsten exponierten Gruppe diagnostiziert wurden (Tab. 5, Abb. 6). Infolgedessen ist eine revidierte Bewertung der 1991 veröffentlichten Daten notwendig, die vor der Neufestsetzung der Allgemeinen Staubgrenzwerte (TRGS 900, 2001) nicht durchgeführt wurde.

Unsere Analyse der Daten ergab u.a. folgendes: Der Prozentsatz PMN war nach 15 Monaten mit einer Belastung der Lunge, die unterhalb des VolGw lag, beim Toner mit 6,7 % erhöht ($p < 0,01$), beim TiO₂ bei der halben Grenzwertbelastung mit 4,9 % ($p < 0,05$). Die hohe Tonerdosis (s. oben) ergab zu diesem Zeitpunkt einen PMN-Wert von 43 %. Die Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen dem Partikelvolumen von Toner und Titandioxid und PMN verliefen linear (Abb. 6). Der Anstieg der Tumorzahlen von der Kontrollgruppe bis hin zur oberen Tonerdosis lag an der Grenze der statistischen Signifikanz (“exakter” Trendtest $p = 0,049$; Cochran-Armitage Trendtest, $p = 0,044$). Das Tumorrisiko der obersten Dosisgruppe war mit 4,4 % 3,3-mal so hoch wie das der 450 Ratten, die nicht oder sehr niedrig exponiert waren ($p = 0,0504$).

Infolgedessen beträgt das über die Tumorzahlen der gepoolten Vergleichsgruppen hinausgehende Risiko 3 % nach chronischer Exposition gegenüber Toner von linear umgerechnet 4,5 mg/m³ über 36 h/Woche (oder 4,1 mg/m³ über 40 h/Wo.). Diese Exposition mit ihrem Exzess-Risiko von 3 % liegt zwischen den beiden seit 2001 geltenden Grenzwerten von 6 mg/m³ für einzeln

bezeichnete Arbeitsbereiche und 3 mg/m³ für die übrigen Arbeitsplätze. Ihre Ableitung gilt als gesundheitsbasiert und weist kein Krebsrisiko aus. Wenn das für Toner ermittelte Risiko dem wahren Risiko entspricht, gilt dieses Exzess-Risiko nicht für alle „große“ GBS-F, sondern nur für solche mit der niedrigen Dichte wie die des Toners von 1,2 g/mL. An vielen Arbeitsplätzen dürfte es wegen der höheren GBS-Dichte rund halb so hoch sein, das bedeutet 1 % bei 3 mg/m³ und 2 % bei 6 mg/m³, soweit es sich um die „großen“ Teilchen handelt.

Abgesehen von den unzutreffenden auerungen zur Kanzerogenität ist anzuerkennen, dass das umfangreiche Toner-Titandioxid-Experiment, in das auch Quarz integriert war, wesentlich zur Verbesserung der Erkenntnisse über die Zusammenhänge zwischen Retention, Staubelimination und Entzündung während der Lebenszeit der Ratte beitrug.

4.6 PMN in der Lungenspülflüssigkeit: Zeichen einer chronischen Entzündung mit irreversiblen Folgen bereits unterhalb einer Exposition in Höhe des MAK-Wertes

Der Gehalt an neutrophilen Leukozyten (PMN) in der Lungenspülflüssigkeit wird häufig als empfindlichster Hinweis auf eine chronische Entzündung mit Tumorfolge bewertet. Nach diesem Kriterium wurde der *No observed adverse effect level* (NOAEL) in dem chronischen Inhalationsversuch mit 0,90 mL TiO₂/m³ über 30 h/Woche (umgerechnet 0,68 mL/m³ über 40 h/Wo.) durch einen erhöhten PMN-Wert nach 15 Monaten statistisch signifikant überschritten (Abb. 6, oberer Teil). Währenddessen stieg das retinierte Staubvolumen über die gesamte Laufzeit von 24 Monaten an. Am Versuchsende wurde in den Lungen der MAK-VolGw erreicht, ohne dass sich bis dahin ein *steady state* des Staubgehalts in der Lunge ergeben hatte, das als wesentliches Kriterium für eine unschädliche Belastung beschrieben wurde (Oberdörster, 1995; Greim *et al.*, 2001). Da der Grenzwert für den alveolengängigen Staub (A-Wert, TRGS 900) nach Barig und Blome (2001) u.a. auf der Annahme einer mittleren Dichte von 2,5 g/mL basiert, entspricht der A-Wert von 3 mg/m³ einem Volumenwert von 1,2 mL/m³. Dieser Wert ist fast doppelt so hoch wie die TiO₂-Exposition von 0,68 mL/m³ über 40 h/Woche. Infolgedessen liegt der NOAEL noch tiefer als 0,7 μ L/m³. Aber auch in der großen Diesel-Inhalationsstudie von Mauderly *et al.* (1987) führte die niedrigste der drei Dieselruß-Konzentrationen von 0,35 mg/m³ innerhalb von zwei Jahren nicht zu einem *steady state* der retinierten Staubmasse in der Lunge (Wolff *et al.*, 1987). Die retinierte Rußmenge war nach 24 Monaten deutlich höher als nach 18 Monaten, nach 18 Monaten höher als nach 12 Monaten. Bisher fehlt der experimentelle Nachweis eines gedachten und durch modellhafte grafische Darstellungen von Oberdörster (1995), Miller (2000) und anderen demonstrierten *steady state*.

Die Ursache liegt zum Teil darin, dass die Halbwertszeit (gleichbedeutend mit Eliminationsrate) keine Konstante ist, sondern von der im Augenblick gerade retinierten

Lungenbelastung abhängt (Roller 2003b). Die Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen Dieselruß und Wirkungsparametern verlaufen meist linear (UBA, 1999). Davon unabhängig betrachtet, kann ein vorhandenes *steady state* des Staubgehalts in der Lunge nicht *a priori* ein Beweis für fehlende gesundheitsschädliche Effekte sein. Ein Anstieg des Staubgehalts in Lungen wurde auch bei Frauen ohne berufliche Exposition innerhalb von 80 Lebensjahren gefunden (Einbrodt und Dohmes (1967). Die Hypothese von Kuempel (s. 4.9.1) über die reaktionslose Ablagerung des Staubüberschusses in der Menschenlunge ist nicht durch entsprechende Messergebnisse belegt.

Das Postulat einer Wirkungsschwelle bei der Ratte in der Höhe des Allgemeinen Staubgrenzwertes mit Hinweis auf die Overload-Hypothese lässt sich nach dieser Analyse der Daten nicht mehr aufrechterhalten.

4.7 Wirkungsmechanismus nicht geklärt; auch eine direkte kanzerogene Wirkung auf die Epithelzellen erscheint möglich

Die seit vielen Jahren vertretene Entzündungshypothese als alleiniger Wirkungsmechanismus für die Entstehung von Lungentumoren kann noch nicht als endgültige und ausschließliche Erklärung des Wirkungsprinzips bei der GBS-Kanzerogenese betrachtet werden. Wenn sich in den laufenden Untersuchungen von Ernst *et al.* (2002) der Befund bestätigt, dass amorphes SiO₂ während einer chronischen Exposition eine chronische Entzündung ohne Tumoren verursacht, würde die Entzündungshypothese infrage gestellt; es müsste zumindest zwischen verschiedenartigen Entzündungen differenziert werden. Aber auch eine direkte kanzerogene Wirkung der Partikeln auf die Epithelzellen erscheint möglich. Sie ist auch als Ursache der im Mittel etwa 4-mal stärkeren Wirkung der GBS-UF im Vergleich zu den GBS-F zu diskutieren (nach gegenwärtigem Auswertungsstand, s. 3.7). Die unterschiedliche Verteilung von Partikeln in der Lunge in Abhängigkeit von ihrer Größe und eine stärkere Anreicherung der kleineren an den für die Tumorinduktion *sensiblen* Orten ist eine plausible Annahme, ohne über diese Lokalisationen, die Wanderung der Staubteilchen dorthin und die Zieldosen hinreichende Kenntnis zu haben. Auch Johnston *et al.* (2000) sind nach ihrem 3-monatigen Inhalationsversuch mit Quarz und amorphem SiO₂ der Ansicht, dass die im Unterschied zu Quarz durch amorphes SiO₂ nicht beobachteten Mutationen am HPRT-Gen von Alveolarzellen in einem *ex vivo* Prüfmodell auf eine direkte toxische Wirkung auf die Epithelzellen hinweisen.

Eine direkte Wirkung hätte zumindest in der besonders starken Mesotheliom erzeugenden Wirkung von Amphibol-Asbestfasern ohne chronische Entzündung nach Inhalation beim Menschen oder nach intraperitonealer Injektion bei der Ratte eine Analogie. Die kanzerogenen Wirkungsstärken von drei künstlichen und zwei natürlichen Mineralfasertypen aus einem *Instillationsversuch* (Pott *et al.*, 1994) waren nicht so deutlich und eindeutig wie erwartet höher als die kanzerogene Potenz granulärer Stäube. Auch bei den faserförmigen Stäuben ergab sich ein Hinweis auf eine stärkere Wirkung der

dünnen Fasern, ohne dass die komplexen Abläufe über Wanderung und Anreicherung am Zielpunkt entschlüsselt werden konnten. Eine enge Assoziation zwischen relativer Partikeldeposition in den Bronchien des Menschen und der Krebshäufigkeit an diesen Gewebezirken verweist ebenfalls auf einen möglichen Zusammenhang zwischen direkter Partikeleinwirkung auf das Bronchialepithel und der Kanzerogenese (Schlesinger und Lippmann, 1978).

Beim Vergleich zwischen Asbest- und GBS-Kanzerogenität bei Ratte und Mensch lässt sich gegenwärtig eine Ähnlichkeit der Mechanismen bei der Entstehung von Tumoren *in den Atemwegen* – im Gegensatz zur Serosa – nicht ausschließen. Unter diesem Aspekt ist auch zu berücksichtigen, dass die kanzerogene Potenz von Asbestfasern in der Lunge des Menschen erheblich größer ist als bei der Ratte (Pott und Roller, 1993; Wardenbach *et al.*, 2000). Ein solcher Unterschied könnte auch an dem höheren Exzess-Risiko in den epidemiologischen Diesel-Studien im Vergleich zur Ratte beteiligt sein, das in Abb. 9 (Abschnitt 4.9.9) veranschaulicht ist. Im Gegensatz zu der besonders großen Empfindlichkeit des Menschen gegenüber Asbest wurden beim Hamster in Inhalationsexperimenten mit einigen Humankanzerogenen keine Lungentumoren festgestellt; das betrifft Asbestfasern (WHO, 1986), PAH-reiches Pechpyrolyse-Abgas (Heinrich *et al.*, 1986), Cadmium-Verbindungen (IARC, 1993), Quarz (IARC, 1997) und Nickel-Verbindungen (IARC, 1990). Negative Kanzerogenitätsstudien beim Hamster können daher nicht als für den Menschen aussagekräftig angesehen werden. Es sei erwähnt, dass es bei der Maus neben einigen nicht positiven Ergebnissen auch Hinweise auf eine tumor erzeugende Wirkung von GBS gibt (Takemoto *et al.*, 1986; Ichinose *et al.*, 1997).

4.8 Wirkungsschwelle bei fehlendem Nachweis primärer Gentoxizität – ein präventivmedizinisch nicht haltbares „als ob-Axiom“

Von vielen Autoren wurde die Ansicht vertreten, es sei von der Existenz einer Wirkungsschwelle eines Stoffes auszugehen, so lange eine primäre Gentoxizität nicht erwiesen sei.

Hierzu beispielhaft ein Zitat von Mauderly (1996): „*It has been proposed (Ames & Gold, 1990, for example) that cancer in animals induced by any agent only at doses causing greatly increased cell proliferation should not be taken as a valid signal for human cancer risk from exposures that would not cause comparable proliferative responses in humans. In addressing this issue, Cohen (1995) proposed that high-to-low dose, animal-to-human extrapolation might be appropriate for genotoxic agents, but not for agents carcinogenic in animals by nongenotoxic mechanisms*“. Bei der Regulation von Asbest wurde jedoch nicht von einer zweifelhaften Gentoxizität ausgegangen, sondern schließlich von dem epidemiologisch evidenten Exzess-Risiko eines spontan sehr seltenen Tumors, dem Mesotheliom, während die Entscheidung aufgrund der zahlenmäßig bedeutenderen Erhöhung der Lungenkrebshäufigkeit wegen der viel höheren Ausgangshäufigkeit viel schwieriger war. Im Falle der GBS ist der krebs erzeugende Wirkungsmechanismus auf die Lunge wie beim Asbest nicht hinreichend geklärt; außerdem liegt der Forderung nach *comparable proliferative responses in humans* ein entscheidender Irrtum zugrunde, der in Abschnitt 4.9.2 diskutiert wird.

Die Frage, in welchem Bereich eine Wirkungsschwelle bei der Ratte liegen könnte, falls sie überhaupt existiert, lässt sich aufgrund der Tumorzahlfrequenzen nur dahingehend beantworten, dass eine Schwelle nach chronischer Exposition gegenüber dem Allgemeinen Staubgrenzwert durch die positiven Ergebnisse, die nahe am VoIGw liegen, praktisch widerlegt ist. Das zeigen die niedrig dosierten Inhalationsversuche mit Dieselabgas (Mauderly *et al.*, 1987) und Toner (Muhle *et al.*, 1991) (Tab. 5) sowie die niedrigsten Dosen der Instillationsversuche (Tab. 2). Jedoch lässt sich eine Wirkungsschwelle bei einer deutlich niedrigeren Exposition sowohl aus methodischen Gründen als auch

wegen der unzureichenden Kenntnis des Wirkungsmechanismus, wie beim Asbest, nicht ausschließen.

Bei diesem Sachstand erscheint die Berechnung der Dosis-Häufigkeitsbeziehungen ohne Annahme einer Wirkungsschwelle gerechtfertigt und geboten, um das mögliche Risiko bei den Allgemeinen Staubgrenzwerten in Betracht ziehen zu können. Dies gilt insbesondere, weil eine große Distanz von rund zwei Zehnerpotenzen besteht zwischen einem für den Menschen präventivmedizinisch und sozialpolitisch relevanten, durch den Arbeitsplatz bedingten zusätzlichem Krebsrisiko von 0,1 % (oder niedriger) und einem bei Ratte und Mensch nachweisbaren Exzess-Risiko ab 5 – 10 %. Die Risikoberechnung für ein langfristig retiniertes Staubvolumen in Höhe des VolGw der MAK-Kommission für GBS-F ist in Abschnitt 3.7 beschrieben. Demnach liegt das Exzess-Risiko bei 2,7 % für 1 µL GBS-F/g Lunge, wobei die Ergebnisse aus dem Instillationsversuch mit dem Minderungsfaktor 3,5 für die inhalative Exposition angepasst wurden. Aus dem im Abschnitt 4.5 besprochenen Inhalationsversuch von Muhle *et al.* (1991) lässt sich für ein nach 9 Monaten retiniertes Tonervolumen von 1 µL/g Lunge ein Tumorrisiko von ca. 1 % ableiten. Bezogen auf eine Expositionskonzentration von 3 mg/m³ ergibt sich ein Risiko für Toner von 2 % bei dem niedrigeren der beiden Allgemeinen Staubgrenzwerte für alveolengängigen Staub von 3 mg/m³. Nach Inhalation von Dieselabgas (3,5 mg Partikel/m³, 35 Std./Woche) fanden Mauderly *et al.* (1987) bei 3,6 % Lungentumoren gegenüber 1,3 % in der Kontrolle; die nach einem Jahr retinierte Rußdosis betrug 0,79 µL/g Lunge, lag also unter dem MAK-VolGw. Wegen der hohen Tierzahlen war der Unterschied von 2,3 % statistisch signifikant. Dieses Exzess-Risiko ist höher als beim Toner und mit der kleineren Partikelgröße erklärbar, wenn man Dieselruß zu den „kleinen feinen“ zählt. Der Unterschied dürfte größer sein, wenn Dieselruß als GBS-UF wirken würde. Aus dem Unit risk von UBA (1999) für Dieselruß, das seinerzeit unter Einschluss der Daten von ultrafeinem Industrieruß und ultrafeinem Titandioxid – für ultrafeine Partikeln geltend – abgeleitet worden war, folgt ein Risiko in Höhe von 5 % für eine Langzeitexposition von Ratten gegenüber 3 mg/m³ in einem arbeitsplatz-typischen Zeitmuster.

Infolgedessen kann das Lungentumorrisiko für die Ratte nach inhalativer Exposition gegenüber dem Allgemeinen Staubgrenzwert von 1 – 3 % für GBS-F gegenwärtig als beste verfügbare Schätzung angesehen werden. Das Risiko durch dieselbe Expositionskonzentration an GBS-UF, für die der Allgemeine Staubgrenzwert wegen ihrer anerkannten krebserzeugenden Wirkung nicht gilt, ist dementsprechend im Bereich von 3 bis 10 % anzusetzen (s. 3.7).

Der Nachweis eines Exzess-Risikos von 1 % über die natürliche Häufigkeit bronchiolo-alveolarer Tumoren hinaus erfordert sehr hohe Tierzahlen, die in aller Regel nicht finanziert werden. Nach Rittinghausen *et al.* (1996) kann beispielhaft von folgenden Lungentumorhäufigkeiten für die sog. historischen Kontrollen von Wistar-Ratten ausgegangen werden: weiblich 0,4 % von 2198, männlich 1,0 % von 2147 (Zitat RITA, 1995). Demnach wären folgende Gruppengrößen und Tumorergebnisse notwendig, um einen p-Wert von 0,05 gerade zu unterschreiten: Kontrollgruppe mit 750 weiblichen Tieren, davon 3 mit Tumor (= 0,4 %); exponierte Tiere 700, davon 10 mit Tumor (=1,4 %), p = 0,035. Kontrollgruppe mit 1000 männlichen Tieren, davon 10 mit Tumor (=1 %), exponierte Gruppe 1000 Tiere, davon 20 mit Tumor (=2%), p = 0,048. Für die in den USA in der Regel verwendete F 344-Ratte werden für die historischen Kontrollen meist deutlich höhere spontane Lungentumorhäufigkeiten angegeben. Infolgedessen müssten die Tierzahlen pro Gruppe noch erheblich höher sein, um ein signifikantes Exzess-Risiko von 1 % zu ermitteln.

4.9 Lungentumorrisiko durch GBS bei Ratte und Mensch: Wesentlicher Unterschied nicht nachgewiesen

In den folgenden Unterabschnitten wird dargelegt, dass die Datenlage über die Kanzerogenität von GBS einschließlich der epidemiologischen Ergebnisse mit

der Möglichkeit eines ähnlichen Lungentumorrisikos in den Lebenszeiten von 2½ Jahren bei der Ratte und 80 Lebensjahren des Menschen nach äquivalenter Exposition durchaus vereinbar ist. Es gibt kein tragendes Argument gegen eine qualitative Analogie, zumal da die Kanzerogenese durch Quarzstaub bei Mensch und Ratte in der Regel auf einen Wirkungsmechanismus zurückgeführt wird, der über eine chronische Entzündung und ihre Folgeerscheinungen verläuft und der auch für die GBS angenommen wird. Auch ein anderer Weg ist bei beiden Spezies denkbar (s. 4.7). Analog zu der Klassifizierung bei der IARC (1997) ist Quarz in die Kategorie 1 der krebserzeugenden Stoffe der MAK-Kommission eingestuft worden (Greim, 1999), das bedeutet *krebserzeugend für den Menschen*. Auch die Tumorrisiken durch Quarz nach äquivalenter Exposition liegen für Ratte und Mensch nahe beieinander (Schlüter, 2003; Roller 2002, 2003a). Nach äquivalenter GBS-Exposition ist beim Menschen sowohl ein kleineres als auch ein größeres Risiko als bei der Ratte möglich (s. 4.9.7 bis 4.9.9). Aufgrund dieses Sachstandes sind die Voraussetzungen für die Einstufung eines bei der Ratte eindeutig wirksamen Kanzerogens in Kategorie 2 nach EU-Richtlinien gegeben, zumal da sich diese Kanzerogenität auch bei einer Staubbiladung pro g Lunge gezeigt hat, die beim Menschen unter Umweltbelastung gemessen wurde (Einbrodt und Domes, 1967).

Dementsprechend können die gegenwärtigen Allgemeinen Staubgrenzwerte nicht als gesundheitsbasiert gelten, denn die Kanzerogenität wurde bei der Festsetzung nicht auf dem aktuellen Stand diskutiert. Es wurde versucht, über die Entschlüsselung des Wirkungsmechanismus die Voraussetzungen für eine Einstufung von GBS in Kategorie 4 der krebserzeugenden Stoffe zu finden, die es nur in der MAK-Liste gibt (Greim *et al.*, 2001), und die mit MAK-Werten verbunden ist. Hierbei konnte sich jedoch im Wesentlichen nur auf Annahmen und Hypothesen gestützt werden. Die Kenntnis von Dosis-Wirkungsbeziehungen und eines NOAEL werden als Voraussetzung für eine Einstufung in K4 beschrieben, aber die Datenlage wurde nicht hinreichend analysiert. Hierbei hätte z.B. auf den in Abb. 6 dargestellten Anstieg der PMN nach Exposition unterhalb des Allgemeinen Staubgrenzwerts hingewiesen und deutlich gemacht werden müssen, dass dieser Grenzwert die Voraussetzung für die Einstufung in K4 nicht erfüllt, oder es hätten Argumente dargelegt werden müssen, nach denen diese Ergebnisse nicht als zuverlässig zu beurteilen sind.

Dies gilt ganz abgesehen davon, dass mit einer K4-Einstufung ein Krebsrisiko mit der Angabe „kein nennenswerter Beitrag zum Krebsrisiko“ verschleiert würde, das bei den gegenwärtigen Grenzwerten für alveolengängigen Staub durchaus im Prozentbereich liegen kann. Eine solche sozialmedizinische Wertsetzung erfordert größere Transparenz. Sie geht aus unserer Sicht über den von Wissenschaftlern zu verantwortenden Bereich weit hinaus und bedarf einer politischen und rechtlichen Absicherung. Dies ist unabhängig davon, ob ein solches Risiko reduziert werden kann oder nicht. Die Häufigkeit sog. *unerwünschter Wirkungen* von Arzneimitteln wird folgendermaßen beschrieben: Häufig: ≥ 1 % - < 10 %; gelegentlich: ≥ 0,1 % - < 1 %; selten: ≥ 0,01 % - < 0,1 %; sehr selten: < 0,01 % (Bayer, 2001).

Die genannte Kategorie 2 der EU gilt für „Stoffe, die als krebserzeugend für den Menschen angesehen werden sollten. Es bestehen hinreichende Anhaltspunkte zu der begründeten Annahme, dass die Exposition eines Menschen gegenüber dem Stoff Krebs erzeugen kann. Diese Annahme beruht im allgemeinen auf: geeigneten Langzeit-Tierversuchen, sonstigen relevanten Informationen“. Die Teilnehmer des DFG Workshops „Toxicity of Fibers and Particles“ sprachen sich im Oktober 2000 eindeutig für die Ratte als Versuchsmodell aus: *“The participants agreed that at present there is no better animal model than the rat for assessing lung cancer risk for poorly soluble particles (PSP)”* (Greim *et al.*, 2001). Andererseits werden Kanzerogenitätsexperimente mit GBS in dem Tagungsbericht nur am Rande erwähnt und die beobachtete tumor erzeugende Wirkung für alle Versuche allein durch die Assoziation mit dem Begriff „Overload“ von einer Relevanz ausgeschlossen.

Gegen die Einstufung von GBS als tierexperimentell erwiesenes Kanzerogen wurden Hypothesen aufgestellt, nach denen gravierende Unterschiede zwischen den Wirkungsmechanismen von Ratte und Mensch bestehen, die eine Übertragbarkeit der GBS-Kanzerogenität auf den Menschen ausschließen würden. Demnach soll bei der Ratte eine Wirkungsschwelle oberhalb der Belastung durch den Allgemeinen Staubgrenzwert existieren und erst ab dieser Belastung das sog. *Overload-Phänomen* beginnen, das es – so die Hypothese – beim Menschen nicht gibt. Eine weitere Wirkungsschwelle soll durch das System der Abwehr gegen Oxidantien gegeben sein, die bei einer chronischen Entzündung entstehen und einen sekundär genotoxischen Effekt zur Folge haben. Diese Hypothesen werden – soweit nicht in Abschnitt 4.8 bereits erfolgt – in den folgenden Unterabschnitten diskutiert. Es wird gefolgert, dass entscheidende Argumente gegen die Annahme sprechen, die quantitativen Unterschiede zwischen den durch GBS induzierten pathogenen Abläufen bei Ratte und Mensch würden auf einen nicht nennenswerten Beitrag zum Krebsrisiko des Menschen bei Einhaltung der Allgemeinen Staubgrenzwerte schließen lassen.

4.9.1 Die Rattenspezifität des Overload-Phänomens: Eine nach wie vor unbewiesene Hypothese

Der Begriff *Overload* entstand aus der Annahme, dass es eine **Nicht-Über**ladung der Lunge gäbe, die keinen gesundheitsrelevanten Effekt und keine Verzögerung der alveolären Lungenreinigung von Partikeln zur Folge hat. Morrow *et al.* (1991) gingen zunächst von einer Wirkungsschwelle bei 1 µL Staub/g Lunge aus. Es folgten Berechnungen mit niedrigerem Ergebnis: 300 µL/g Lunge (Bellmann *et al.*, 1991, 60 µL/g (Bellmann *et al.*, 1994) und schließlich entwickelte Yu (1996) eine mathematische Formel für das Verhältnis zwischen retiniertem Partikelvolumen und der alveolären Clearance-Rate, die keine Schwelle enthält. Für diesen Fall bedeutet das, dass es den „Knick“ in der Kurve zwischen *eindeutig risikofreier Beladung* und einer *Überladung* nicht gibt, der Übergang ist fließend; auch die Allgemeinbevölkerung ist betroffen, falls die Analogie zur Ratte besteht. Die Problematik wird im Einzelnen von Roller (2003b) erörtert. Die MAK-Kommission kommentiert, dass der von ihr festgesetzte Allgemeine Staubgrenzwert von 1,5 mg/m³ für alveolengängigen Staub mit der Dichte von 1 g/mL bei

der Ratte mit einer Verzögerung der alveolären Lungenreinigung auf etwa die doppelte Zeit verbunden ist (Greim, 1997). Es handelt sich hier also nicht um eine wissenschaftlich nachgewiesene Overloadschwelle, die diese Bezeichnung verdienen würde, sondern um einen Wert in einem Bereich, in dem die Verzögerung der Lungenreinigung zweifelsfrei feststand und in dem bereits ein Anstieg der PMN nachgewiesen worden war, wie Abb. 6 zeigt.

In dem in ILSI (2000) definierten Wortsinn bedeutet *Overload* nicht allein eine Staubanreicherung in der Lunge; denn diese Anreicherung wurde bei allen untersuchten Spezies gefunden. Sie dürfte grundsätzlich bei allen Säugern stattfinden. Mit dem *Overload-Phänomen* wird darüber hinaus und insbesondere ein Komplex von funktionellen und pathologisch-anatomischen Folgen auf die Staubüberladung bezeichnet, die letztlich als Voraussetzung für die Tumorentstehung in der Rattenlunge betrachtet wird, aber – so die Hypothese – erst dann beginnt, wenn ein angenommener Gleichgewichtszustand zwischen Deposition und Elimination (*steady state*) nicht besteht, sondern die retinierte Staublast weiter zunimmt. Die Folgen sind Schädigung der Alveolarmakrophagen, weitere Verlangsamung der alveolären, durch Makrophagen vermittelten Lungenreinigung, Anstieg der Staubmenge in den Alveolen, chronische granulozytäre Entzündung, oxydativer Streß und Proliferation der Epithelzellen mit Mutationen. (In Abschnitt 4.6 wurde allerdings erläutert, dass dieses *steady state* für das retinierte Staubvolumen auch nach Exposition unterhalb des Allgemeinen Staubgrenzwertes experimentell bisher nicht gezeigt werden konnte.) Während das *Overload-Phänomen* nach ILSI (2000) bei Ratte, Maus und Hamster nachgewiesen wurde, wird es für den Menschen infrage gestellt oder als *nicht vorhanden* angenommen. Die Arbeit von Kuempel (2000) enthält eine Hypothese, nach der das *Overload-Phänomen* trotz Staubüberladung der Lunge beim Menschen wegen einer andersartigen Kinetik im Unterschied zur Ratte nicht auftritt.

Basis dieser Hypothese ist eine Modellrechnung von Kuempel mit Daten über den Gesamtstaubgehalt der Lungen von Kohlenberg-leuten. Demnach bleibt der Staubgehalt im Alveolarbereich konstant, obwohl die überschüssige Staubdeposition, die die Kapazität der durch Makrophagen vermittelten alveolären Lungenreinigung übersteigt, nicht über die Bronchien die Lunge wieder verlässt, sondern im Interstitium der Lunge reaktionslos abgelagert wird. Dieser Hypothese könnte gefolgt werden, wenn sie sich auf differenzierte Messergebnisse darüber stützen könnte, dass nur ein kleiner Anteil der Kohlenstaubmasse im Alveolarraum der Bergleute abgelagert war und der ganz überwiegende Anteil im Interstitium, wo er praktisch unschädlich sein soll, was nach den Darlegungen in den Abschnitten 4.9.2 und 4.9.3 nicht nahe liegt. Es lagen aber – soweit erwähnt – nur Messungen über den Gesamtstaubgehalt der Lungen von 131 Berg-leuten vor, die zwischen 1959 und 1973 verstarben. Eine Differenzierung nach Alveolarraum und Interstitium ist also nicht vorhanden, außerdem handelt es sich um lange zurückliegende Expositionen, und die Schätzungen der Expositionskonzentrationen dürften mit entsprechenden Unsicherheiten verbunden sein. Der statistische Zusammenhang zwischen den Gesamtstaubgehalten in den Lungen und den Expositionszeiten und abgeschätzten Expositionskonzentrationen der Bergleute wurde von Kuempel (2000) mit einer Klasse pharmakokinetischer Rechenmodelle untersucht. Die Schlussfolgerung der Autorin ist, dass ein Modell, das von einer Interstitialisierung bzw. Sequestrierung des größten Teils des Staubs ausgeht, die gemessenen Gesamtstaubgehalte im Zusammenhang mit den angenommenen Expositionen am besten erklärt, wobei eine Beein-

trächtigung der alveolären Clearance, also der Alveolarmakrophagen, wie man sie nach den Rattenversuchen erwarten würde, keine oder nur eine relativ kleine Rolle spielt. Ein wichtiger Punkt liegt aber in dieser „relativ kleinen Rolle“, da Kuempel ausführte: *“the no overload or 50 % overload models provide similar fit”*. Eine Beteiligung von Overload-Prozessen wie bei der Ratte lässt sich also keineswegs ausschließen. Wenn diese bezogen auf die Lungengröße beim Menschen relativ geringer ausfallen, so ist damit keinesfalls zwangsläufig auf ein niedrigeres Tumorrisiko zu schließen, wie in Abschnitt 4.9.2 näher erläutert wird. Für den in das interstitielle Gewebe der Lunge transportierten Staub wird ja eine unschädliche Ablagerung angenommen. Das durch interindividuelle Reaktionsunterschiede breite Spektrum der histopathologischen Reaktionen (s. Abschnitt 4.9.3) wird bei dieser Hypothese ausgeblendet. Als unterstützendes Argument für die Interpretation von Kuempel (2000) wird die in einem Versuch mit Affen gefundene größere Staubablagerung in den verschiedenen Teilen des interstitiellen Gewebes gesehen (Nikula *et al.*, 1997), die aber nur den Faktor zwei ergibt. Außerdem wird auf eine schwache Epithelproliferation beim Menschen im Vergleich zur Ratte hingewiesen, deren falsche Bewertung in Abschnitt 4.9.2 diskutiert wird. Für den Menschen ermittelte Kuempel in ihrer Modellrechnung ein Verhältnis von Alveolarstaubmasse zur Staubmasse im Interstitium von etwa 1 zu 10 am Ende der gesamten Beschäftigungszeit von 45 Jahren. Die durch die unterschiedlichen Lebenszeiten, Lungengrößen und Zellteilungshäufigkeiten von Ratte und Mensch gegebene Gesamtdifferenz lässt sich nicht berechnen, weil hierfür notwendige Informationen fehlen, aber sie dürften den Faktor 100 für die Zellteilungsraten in der Lebenszeit weit übersteigen, wie im folgenden Abschnitt erläutert wird.

4.9.2 Falsches Postulat: Gleiche Entzündungsreaktionen und gleicher Proliferationsgrad für gleiche Tumorrisiken

Die gegenwärtig herrschende Ansicht, das Overload-Phänomen sei mit seinen Folgen auf die Rattenlunge beschränkt, beruht wesentlich auf den quantitativ relativ wenig ausgeprägten histopathologischen Veränderungen durch GBS in den Lungen von Hamstern und Mäusen sowie durch Kohlengrubenstaub bei Bergleuten (Brockmann *et al.*, 1998) und Affen (Nikula *et al.*, 1997). Bei diesen Vergleichen mit der Ratte wird sich auf Unterschiede in einzelnen Gewebeschnitten bzw. auf gleiche Lungenvolumina bezogen. Diese quantitativen Unterschiede wurden fälschlich als Maßstab für die Übertragung von Krebsrisiken von der Ratte auf den Menschen verwendet. *Der fundamentale Unterschied zwischen den Dosis-Wirkungsbeziehungen für nicht neoplastische Läsionen in gleichen Lungenvolumina von Ratte und Mensch einerseits und den Dosis-Häufigkeitsbeziehungen für Tumoren in sehr unterschiedlichen Lungenvolumina und Lebenszeiten andererseits wurde bisher nicht berücksichtigt. In keiner der Veröffentlichungen, die eine Übertragbarkeit der Staubkanzerogenität von der Ratte auf den Menschen ablehnten, wurden die Fragen diskutiert, die dieser Unterschied aufwirft* (Driscoll, 1996; Greim *et al.*, 2001; ILSI, 2000; Mauderly, 1996; McClellan, 1996; Miller, 2000; Mossman, 2000; Nikula, 2000; Oberdörster, 1995; 1996; 2002; weitere).

Es ist viel zu einfach gedacht, wenn vom Grad einer chronischen Entzündung in der Rattenlunge und von der Häufigkeit von Proliferationen und Tumoren bei der Ratte darauf geschlossen wird, daß die nicht neoplastischen Veränderungen beim Menschen wie bei der Ratte aussehen müßten, damit das gleiche Tumorrisiko entsteht. Während die histologische Untersuchung einer repräsentativen Auswahl von Lungenschnitten ausreicht, um den Fibrosegrad bei Mensch und Ratte zu diagnostizieren und zu vergleichen, sind die Voraussetzungen für die Übertragung von Krebsrisiken sehr verschieden. Es bestehen riesige Unterschiede zwischen den

Zellteilungsraten von Ratte und Mensch; sie machen genetisch determinierte quantitative Unterschiede der vielgestaltigen Faktoren im Verlauf der Kanzerogenese bei den beiden Spezies *absolut erforderlich*, wenn nach äquivalenter Exposition in den sehr unterschiedlichen Lebenszeiten die Möglichkeit gleicher Krebsrisiken entstehen soll. Hierzu nur der Hinweis von Simons (1995), wonach Mäusezellen im Vergleich zum Menschen auf der Basis Körpergewicht und Lebenszeit rechnerisch unter einem etwa 100.000fach höheren Risiko stehen, Tumorzellen zu werden, aber eine 300-fache Steigerung der Mutationshäufigkeit in den ersten beiden Stufen der Kanzerogenese sei wahrscheinlich eine realistischere Zahl. Die Äußerung von Ames (1989), nach der bei 30 % der relativ kurzlebigen Ratten und Mäuse ebenso wie beim Menschen irgendeine Form von Krebs entsteht, kann nur als grobe Faustregel verstanden werden und berechtigt keinesfalls zu Analogieschlüssen bei bestimmten Organkrebsformen; sie beweist allerdings die großen genetisch bedingten Unterschiede in der Anfälligkeit der Zellen für Mutationen.

Die um ein Vielfaches höhere Anzahl an Zellen und Zellgenerationen in der Menschenlunge würden bei gleicher Anfälligkeit von Ratte und Mensch pro Zellteilung gegenüber Mutationen durch krebserzeugende Stoffe bereits bei Kindern zu hohen Krebshäufigkeiten führen. Wenn nach äquivalenter Exposition von Ratte und Mensch ein ähnliches Krebsrisiko resultiert, setzt das bei der Ratte eine Art von genetisch festgelegtem „Zeitraferrmechanismus“ im Verhältnis zum Menschen voraus. Dieser Komplex dürfte aus vielen Faktoren bestehen, z.B. stärkere persistierende Entzündung, höhere Proliferationsrate und geringere DNA-Reparaturkapazität. Nur durch erhebliche Unterschiede dieser Art kann der Prozeß der Kanzerogenese zum Überleben des Menschen über 75 – 80 Jahre mit gleichem Krebsrisiko führen wie bei der Ratte in 2½ Jahren. Wenn sich in einer einzigen Lunge von 1000 Ratten mit einem Gesamtgewicht von 1000-mal 1 g eine Tumorzelle zu einem Tumor entwickelt, entsteht bei dieser Rattengruppe eine Tumorzellhäufigkeit von 0,1 %. Wenn sich in einer Menschenlunge mit der gleichen Lungenmasse wie 1000 Rattenlungen an irgendeinem Gramm dieser 1000 g Menschenlunge aus einer Tumorzelle ein Lungenkrebs entwickelt, dann sind diese 1000 g ungeteilt vom Lungenkrebs betroffen, das bedeutet eine Lungenkrebshäufigkeit von 100 %, und nicht nur von 0,1 % der Gesamtmasse. Darin ist der Faktor Lebenszeit noch nicht enthalten. Dieser quantitativ überragende Unterschied relativiert die vielen Ungleichheiten zwischen Mensch und Ratte, die aus Untersuchungen von mechanistisch bedeutsamen Einzelfaktoren in Richtung auf eine größere Empfindlichkeit der Ratte fehlinterpretiert wurden.

4.9.3 Entzündungen durch Kohlengrubenstaub als Vertreter der GBS zweifellos auch beim Menschen

Nach Ansicht der MAK-Kommission besteht im Grundsatz kein Zweifel daran, dass auch die Pneumokoniose des Menschen mit entzündlichen Fremdkörperreaktionen verbunden ist (Greim, 1998): „Kohlengrubenstaub kann als schwerlöslicher Staub in der Lunge exponierter Menschen bzw. Tiere akkumulieren und sowohl zu einer Beeinträchtigung der Lungenclearance als auch zu entzündlichen Gewebsveränderungen führen. Der Kohlengrubenfeinstaub wird als das wesentliche kausale Agens für die Entwicklung der Bergarbeiter-Pneumokoniose angesehen. Jedoch kann dessen Quarzgehalt nicht als das eigentliche Schädigungsprinzip unabhängig vom Inkohlungsgrad der abgebauten Kohle und unabhängig vom Silikatgehalt des Kohlengrubenfeinstaubes akzeptiert werden.“ Bereits Nagelschmidt (1960) und Nagelschmidt *et al.* (1963) schlossen aus ihren Untersuchungen über den Staub- und Kollagengehalt in Lungen von Kohlenbergleuten mit progressiver massiver Fibrose (PMF), dass die Quarztheorie als Ursache der PMF durch die vorgelegten Daten nicht gestützt wird. Von Seiten der Histopathologie werden die tierexperimentellen Lungen-

Veränderungen durch Quarz folgendermaßen beschrieben: „Die vorwiegend mikroskopisch, immunhistochemisch, elektronenoptisch und morphometrisch zu erhebenden Befunde zur formalen Pathogenese quarzinduzierter Reaktionsmuster sind den Bildern beim Menschen durchaus vergleichbar“ (Müller und Wiethage, 2000). Für den Menschen heißt es dort: „Die in Präparaten ehemaliger Bergleute für uns täglich nachvollziehbaren Befunde der ‚Staublungenveränderungen‘ sind bei demselben Patienten innerhalb der Lungen bezüglich Aktualität, Ausmaß und Aktivität durchaus variabel entwickelt.“ An anderen Stellen: „Quarz als ‚direktes‘ Kanzerogen kann aus umfangreichen morphologischen Befunden beim Menschen nicht wissenschaftlich begründet abgeleitet werden.“ „..... kann aus den Befunden aber der Weg zur Tumorealisation grundsätzlich auch für Quarz über einen chronischen Entzündungsprozeß mit Mediatorfreisetzung aus Entzündungszellen und daraus abzuleitender Schädigung der genetischen Information bis zur unkontrollierten autonomen Tumorzelle diskutiert werden.“ Die pathophysiologischen und histopathologischen Abläufe nach Exposition gegenüber Quarzstaub und GBS sind demnach *qualitativ* nicht zu unterscheiden, solange nicht das typische Bild einer ausgeprägten Silikose entwickelt ist.

4.9.4 Unterschiedliche Zumutbarkeit reversibler und irreversibler Schäden

Eine Verzögerung der Lungenreinigung kann, isoliert von allen Folgen betrachtet, bis zu einem gewissen Grade als harmlos angesehen und bei allen Exponierten hingegenommen werden. Diese generelle Akzeptanz ist aber bei Zeichen einer Entzündung, auf die der Allgemeine Staubgrenzwert abgestellt ist, nicht mehr in gleichem Maße gegeben. Solange es jedoch bei einer *reversiblen* Schädigung bleibt, die nur bei empfindlichen Individuen auftritt und die bei den vorgeschriebenen arbeitsmedizinischen Untersuchungen gegebenenfalls zu entsprechenden Vorsorgemaßnahmen führt, dürfte ein Risiko in bestimmten Grenzen zumutbar sein. Für diesen Zustand könnte der Allgemeine Staubgrenzwert von 3 mg/m³ zutreffen. Bei einem durch die chronische Entzündung verursachten *irreversiblen* Schaden wie bei einem Krebsrisiko ist diese Zumutbarkeit jedoch nur bei einem erheblich geringeren Risiko oder unter unvermeidbaren Umständen ethisch und rechtlich vertretbar. Für die amerikanische Arbeitsschutzbehörde (OSHA, 1997) ist nach einem Urteil des Obersten Gerichtshofs (U.S. Supreme Court) ein Risiko von 1 zu 1000 *clearly significant*. Es repräsentiert das *uppermost end of the million-fold range suggested by the Court*, irgendwo darunter muss die Grenze zwischen dem akzeptablen und nicht akzeptablen Risiko gezogen werden.

„Kein nennenswerter Beitrag zum Krebsrisiko“, wie er in der MAK- und BAT-Werte-Liste den in Kategorie 4 und 5 eingeordneten krebserzeugenden Stoffen zuerkannt wird (DFG, 2001), sollte demnach unterhalb von 0,1 % liegen, soweit in Deutschland keine andere Rechtsgrundlage vorgegeben ist. Möglicherweise muss z.B. ein zehnfach höheres Risiko unter bestimmten Umständen zugemutet werden, aber es sollte nicht irreführend unter der Formulierung *nicht nennenswert* vernebelt werden. Eine derartige Verschleierung eines Risikos würde bei Arzneimitteln nicht geschehen (s. 4.9).

4.9.5 System der Oxydantienabwehr: Unterschiedliche „Kapazitäten“ bei Ratte, Hamster und Mensch

Gegenwärtig lässt sich nicht entscheiden, inwieweit eine schwächere Entzündung der Menschenlunge, geringere Mitose- und Proliferationsrate, höhere Effektivität der DNA-Reparatur, höhere Oxydantien-Abwehr und weitere genetisch bestimmte Vorgaben den Menschen in 75 – 80 Lebensjahren letztlich an ein ähnliches Krebsrisiko heranführen, das die Ratte nach äquivalenter Exposition gegenüber GBS bereits in 2½ Jahren erreicht. In Anbetracht der guten quantitativen Übereinstimmung von Mensch und Ratte beim Quarzstaub liegt eine Ähnlichkeit auch für GBS nahe. Für den Hamster wurde ein besserer Abwehrmechanismus gegen GBS-induzierte Oxydantien im Vergleich zur Ratte ermittelt und damit die unterschiedliche Empfindlichkeit dieser beiden Spezies gegenüber der Kanzerogenität durch GBS zwar plausibel, aber wahrscheinlich nicht ausreichend erklärt (Driscoll *et al.*, 2002). Mehrere für den Menschen relevante Kanzerogene erwiesen sich im Inhalationsexperiment in der Hamsterlunge nicht als tumorerzeugend (s. 4.7). Bisher fehlen Daten für einen validen Vergleich zwischen kanzerogener Wirkungsstärke und Abwehrmechanismen bei Hamster und Mensch, denn: *“At present, we are just beginning to understand the relationships between particle exposure, antioxidant mechanisms, and susceptibility.”* (Driscoll *et al.*, 2002).

Dieser Kenntnisstand impliziert auch die Unsicherheit der Schwellenhypothese, die für nicht primär genotoxische Stoffe aufgestellt wurde (s. 4.8). Die Hypothese und eine Einstufung in K4 setzt nach unserem präventivmedizinischen Verständnis bei den Arbeitnehmern in aller Regel ein insgesamt perfekt funktionierendes System der Abwehrmechanismen unter Expositionen im Grenzwertbereich voraus, das jedoch nicht gegeben zu sein scheint: *“Thus, even low adduct levels due to environmental exposure lead to persistent lesions in the human lung”* (Hartwig, 2002). Für regulatorische Zwecke müsste die Höhe der Dosischwelle für jeden Stoff zuverlässig bestimmt werden können, bis zu der das Abwehrsystem perfekt arbeitet. Dies müsste dann auch für Dieselmotor-Emissionen zutreffen, die wegen ihres für die Kanzerogenität nicht ausschlaggebenden PAH-Anteils ebenfalls den GBS zuzurechnen sind und gegenwärtig unseres Erachtens zutreffend in die Gruppe 2a der IARC-Klassifikation (*the agent is probably carcinogenic to humans*) eingestuft sind.

4.9.6 Unterschiedliche Lungentumortypen bei Ratte und Mensch: Präventivmedizinisch irrelevant

Die Lungentumortypen der Ratte sind histopathologisch zum Teil denen des Menschen nicht ähnlich und die Häufigkeit der verschiedenen Typen ist anders verteilt als beim Menschen. Es ist jedoch nicht gerechtfertigt, bestimmte Tumortypen der Rattenlunge, die beim Menschen nicht gleichartig oder nur selten auftreten, für die Beurteilung im Hinblick auf den Menschen auszuklammern oder sie für die statistische Analyse voneinander zu trennen, zumal da die statistische Signifikanz bereits nach Zusammenfassung aller Tumoren erst auf einem Niveau erreicht wird, das weit über der Grenze der Zumutbarkeit liegt. Die Nachweisgrenze würde bei getrennter Bewertung noch weiter angehoben werden. Tabelle 7 zeigt Häufigkeitsverteilungen des Vorkom-

mens einzelner Tumortypen bei Mensch und Ratte. Das beim Menschen in ca. 35 % der autopsierten Lungenkrebsfälle gefundene kleinzellige Karzinom tritt bei der Ratte nicht auf. Im Falle der durch Asbest verursachten Lungentumoren wäre die Unterschätzung des Tumorrisikos für den Menschen mit den Ergebnissen der Ratte durch Ausschluss eines Teils der Lungentumoren noch größer als sie ohnehin evident ist (Wardenbach *et al.*, 2000). Aus präventivmedizinischer Sicht ist entscheidend, dass ein Stoff in der Lunge Tumorbildungen induziert, unabhängig von den Tumortypen.

Das gilt insbesondere dann, wenn mehrere Tumortypen erzeugt wurden, was die Regel ist. *“Benign and malignant tumors will be combined when scientific defensible”* (EPA, 1986). Außerdem wird beim Menschen immer deutlicher, „dass sich pulmonale bösartige Neubildungen durch eine besonders hohe Heterogenität mit variablen Expressionen biologisch verschiedener Tumortypen auszeichnen“ (Müller und Theile, 1994), so dass eine Trennung verschiedener Typen für das Lungenkrebsrisiko nicht nur präventivmedizinisch, sondern auch wissenschaftlich nicht gerechtfertigt ist.

Tab. 7 – Relative Häufigkeiten der Lungentumortypen bei Mensch und Ratte

Herkunft des Lungengewebes	n	Adenom	Adenokarzinom	Epitheliom	Plattenepithelkarzinom	Kleinzellkarzinom	Großzellkarzinom	Sonstige Karzino-me
Biopsie	635 ^a		23 %		41 %	30 %	1 %	5 %
Operat.	163 ^a		40 %		45 %	10 %	5 %	< 1 %
Autopsie	107 ^a		18 %		31 %	36 %	7 %	8 %
Frauen	^b		36 %		25 %	23 %	9 %	16 %
Männer	^b		15 %		46 %	25 %	13 %	14 %
Ratten	368 ^c	12 %	32 %	27 % ^d	27 %			1,7 %

^a Ergebnisse aus der Klinik „Bergmannsheil“, Bochum 1989 (Müller und Reichel; 1990).

^b Krebsregister der DDR 1978 – 1982 (Mehnert *et al.*, 1992). Bei Frauen und Männern insgesamt rund 6870 Neuerkrankungen, davon ca. 70 % histologisch gesichert; Anteil der Frauen etwa 10 %.

^c Ergebnisse aus Teil 1 der 19-Stäube Studie (Pott *et al.*, 2000).

^d Diese 27 % gutartigen epithelialen Tumoren wurden nach der Klassifizierung von Boorman *et al.* (1996) in drei Typen unterteilt: Nicht keratinisierende 3,4 %, zystisch keratinisierende 15 %, keratinisierende 8 %.

4.9.7 Erhöhte Lungentumorhäufigkeit bei Kohlenbergleuten, durch Healthy worker-Selektionseffekte schwer zu entdecken

Der Unterschied zwischen den positiven und den nicht positiven epidemiologischen Studien erklärt sich zum Teil vor dem Hintergrund des inzwischen deutlich gewordenen Healthy worker-Selektionseffekts (Morfeld *et al.*, 1997; Bolm-Audorff *et al.*, 1998; Becklake, 1998), nach dem früher vermutlich nicht eingehend gesucht wurde oder nicht gesucht werden konnte. Einerseits gibt es seit langem eine Regel, nach der für Krebs-erkrankungen kein Healthy worker-Effekt existiert. Andererseits erscheint ein Effekt der Vorauswahl von weniger staubsensiblen und zu Entzündungen der Atemwege neigenden Personen an staubreichen Arbeitsplätzen plausibel. Becklake (1998) schreibt: *“There is evidence that changes to less dusty assignments, or job turnover rates early in a mining career are related to airway hyperresponsiveness. For instance, recent studies in U.S. coal miners have shown that those employed in dusty jobs are less likely than*

their unexposed coworkers to exhibit increased airway hyperresponsiveness.”

Es ist bemerkenswert, dass die standardisierte Inzidenz-Ratio (SIR) für alle Krebsarten in einer Kohorte von Kohlenbergleuten in New South Wales (Australien) signifikant erniedrigt war (0,82; 95 % Vertrauensbereich 0,73 – 0,92), die SIR für Lungenkrebs betrug 0,74 (95 % V.b. 0,50 – 1,06) (Brown *et al.*, 1997). Bei einer Meta-Analyse von 10 SMR-Follow-up-Studien und 4 OR-Fall-Kontroll-Studien fanden Morfeld *et al.* (1997) bei den SMR-Studien ein signifikant erniedrigtes Risiko, bei den Fall-Kontroll-Studien war das Risiko signifikant erhöht. Dieser Unterschied lässt auf einen systematischen Fehlereinfluss in Abhängigkeit vom Studientyp schließen. Zwei Studien aus Deutschland geben Hinweise auf ein erhöhtes Lungenkrebsrisiko von Kohlenbergleuten: In Übereinstimmung mit anderen Follow-up-Studien stellten Morfeld *et al.* (1997) bei Bezug auf die Allgemeinbevölkerung als Vergleichskollektiv (hier des Saarlandes) ähnlich der erwähnten australischen Studie eine signifikant erniedrigte Lungenkrebsmortalität des gesamten Kollektivs aus dem Saarbergbau fest (SMR = 0,71). Im Vergleich mit einer internen Kontrollgruppe errechnete sich allerdings ein signifikant erhöhtes relatives Risiko von 2,5 (95%-V.b. 1,5 - 3,2) für Beschäftigte mit röntgenologischen Anzeichen einer Pneumokoniose. Bolm-Audorff *et al.* (1998) fanden bei Steinkohlenbergleuten, die mehr als 20 Jahre exponiert waren, eine Odds Ratio von 3,17 (95%-V.b. 1,44 - 6,97). Es muss offen bleiben, inwieweit die erhöhte Lungenkrebshäufigkeit auf die freie Quarzoberfläche und den als

GBS anzusehenden größten Anteil des Grubenstaubes zurückzuführen ist.

Wenn die langjährig hoch durch Staub belasteten Bergleute eine wenig empfindliche Gruppe darstellen, könnten Patienten mit fibrosierender Alveolitis das andere Ende der Empfindlichkeitsskala bilden, deren Lunge für den krebserzeugenden Effekt von chronischen Entzündungsreaktionen besonders empfänglich ist. Von 326 Todesfällen mit idiopathischer Lungenfibrose aus sechs Studien waren 34 (10,4 %) mit einem Bronchialkarzinom gestorben (Panos *et al.*, 1990). In einer neueren Untersuchung an 209 Fällen mit fibrosierender Alveolitis (95 Frauen, 114 Männer) starben 22 an einem Bronchialkarzinom. Das Alter zum Todeszeitpunkt betrug als Mittelwert 55,7 Jahre und lag damit etwa 10 Jahre unter dem Durchschnitt der Karzinompatienten (Guschall *et al.*, 1998). Es wäre zu prüfen, ob der Healthy worker-Selektionseffekt in den nicht-positiven älteren Studien an Kohlenarbeitern, die die Basis für die Beurteilung von Mauderly (1994) bildeten, hinreichend berücksichtigt wurde.

Eine grobe Überschlagsrechnung führt zu dem Schluss, dass die Tumorfrequenz von 60 % bei Ratten durch 60 mg instillierten Kohlenstaub und 40 mg retinierte Staubmasse in der Lunge mit dem statistisch signifikant erhöhten Krebsrisiko von Bergleuten aus dem Steinkohlenbergbau im Saarland vereinbar ist.

Bei einem Vergleich der epidemiologischen mit den tierexperimentellen Ergebnissen kann von folgenden Daten ausgegangen werden: Bergleute aus dem Ruhrrevier ohne Silikose haben nach 40-jähriger Exposition unter Tage im Mittel 20 g Staub in der Lunge (Einbrodt, 1967). Mauderly (1994) berechnete einen "weighted mean value" von 16,7 g aus acht Veröffentlichungen. Wegen der langen Latenzzeit für die Tumorinduktion wirkt sich wahrscheinlich nur die halbe Zeit der beruflichen Tätigkeit von 40 Jahren als kanzerogene Dosis aus, das wären bei linearem Anstieg 8 – 10 g im Vergleich zu den oben genannten 40 mg bei der Ratte nach Instillation von 60 mg Kohlenstaub. Das Lungengewicht der weiblichen Wistar-Ratte verhält sich zum Lungengewicht von Männern ungefähr wie 1 zu 1000. Infolgedessen entspricht die Staubbilastung der Ratte von 40 mg pro Gramm Lunge nach Abschluss der Instillationsserie im Lebensalter von 4½ Monaten etwa der 5-fachen Lungenaublast von 10 g nach 20 Jahren Arbeit im Kohlenbergbau; zu diesem Zeitpunkt sind etwa 50 % der Lebenserwartung erreicht (38 Jahre zur Lebenserwartung von 76 Jahren). Die größere Empfindlichkeit des Instillationstests im Vergleich zur inhalativen Exposition liegt beim Faktor 3 – 4. Aus der 5-fach höheren Dosis pro g Rattenlunge und der 3 – 4-fach größeren Empfindlichkeit des Testmodells ergibt sich eine 15 – 20-fach größere Belastung der Ratte, die zu einem Exzess-Risiko von 54 % führte (Mittelwert aus den drei Grubenstäuben). Das Exzess-Risiko der saarländischen Kohlenbergleute mit gesicherter Pneumokoniose kann im Vergleich mit der saarländischen Bevölkerung (Vergleichszahlen zur Krebssterblichkeit des saarländischen Krebsregisters 1993) mit 6 % berechnet werden. Unter der Voraussetzung, dass die Belastung den geschätzten und hochgerechneten Werten entspricht, sind die Exzess-Risiken von 6 % bei diesen Bergleuten und von 54 % in dem Rattenexperiment durchaus miteinander vereinbar, da dieses Verhältnis der Risiken von 1 zu 9 mit einem Verhältnis der Lungenbelastungen zwischen 1 zu 15 und 1 zu 20 verbunden ist. In Anbetracht der Streubreite der Ergebnisse wäre auch ein kleineres Exzess-Risiko der Bergleute als „rattenähnlich“ zu bezeichnen.

4.9.8 Epidemiologische Studien mit Ruß und Steinstaub

Aus der Rußindustrie (Herstellung und Anwendung) liegen mehrere epidemiologische Untersuchungen vor, die jedoch nach IARC (1996) zur Beurteilung der Ruß-Kanzerogenität alle nur eingeschränkt geeignet sind. Die Studie von Hodgson und Jones (1985) an Beschäftigten der Ruß herstellenden Industrie, die von der IARC-Arbeitsgruppe für besonders informativ gehalten wurde, zeigte ein an der Grenze der statistischen Signifikanz liegendes erhöhtes Lungenkrebsrisiko (RR 1,5; 95 % V.b. 1 – 2,2).

In IARC (1997) werden zahlreiche Studien an Arbeitern aus Steinbrüchen im Zusammenhang mit Quarz referiert. Die statistisch signifikant erhöhten Lungenkrebshäufigkeiten wurden allein dem Quarzanteil zugeschrieben. Hier wäre auch die Alternative zu betrachten, dass dem GBS-Anteil eine Bedeutung zukommt, wenn der Quarzanteil klein oder die freie Quarzoberfläche durch die Begleitminerale inaktiviert ist wie beim Kohlenstaub. Diese Fragestellung bedarf weiterer Untersuchungen.

4.9.9 Stärkere Kanzerogenität von Dieselruß beim Menschen als bei der Ratte unwahrscheinlich, additive Mitwirkung anderer GBS nahe liegend

Die Lungenkrebsrisiken in epidemiologischen Studien zur beruflichen Exposition gegenüber Dieselmotoremissionen sind konsistent erhöht, die Maße für das relative Risiko liegen im Bereich von etwa 1,3 bis 2,0 (Literaturübersicht, auch über die Unit risk-Werte, in UBA, 1999). Die Erhöhungen sind nur zum Teil statistisch signifikant, sie sind nicht in allen Fällen durch unterschiedliche Rauchgewohnheiten der Kollektive erklärbar. Nachdem im Jahr 1999 zu den vorliegenden internationalen Studien eine weitere Untersuchung in Deutschland hinzugekommen war (Brüske-Hohlfeld *et al.*, 1999), ließ sich die epidemiologische Evidenz in der Nähe eines Kausalzusammenhangs zwischen erhöhtem Lungenkrebsrisiko und beruflicher Exposition gegenüber Dieselmotoremissionen sehen. In einer Bewertung durch HEI (1995) wurde eine Risikoerhöhung auf das 1,2 bis 1,5-fache nahe gelegt, aber als *gering* bezeichnet.

Die Bewertung als *gering* mag aus der Sicht des Statistikers zutreffen, weil der epidemiologische Nachweis einer Risikoerhöhung mit einem relativen Risiko von 1,5 unsicher und daher klein erscheint, das absolute zusätzliche Risiko beträgt jedoch bereits 3 % bei einer „normalen“, größtenteils durch das Rauchen verursachten Lungenkrebshäufigkeit von 6 % bei Männern. Ein Exzess-Risiko von 3 % durch eine einzige Ursache ist jedoch unter präventivmedizinischen Gesichtspunkten als *hoch* zu beurteilen. Bei einem Arzneimittel würde eine sog. *unerwünschte Wirkung* in dieser Höhe als *häufig* bezeichnet werden (s. 4.9).

Eine höhere kanzerogene Potenz von Dieselruß für den Menschen im Vergleich zur Ratte wird deutlich, wenn die Risikoerhöhung in den epidemiologischen Studien *allein* der Dieselrußwirkung zugerechnet wird. Dieser Unterschied ist schwer vereinbar mit der Interpretation, der Mechanismus, der die Lungentumoren durch schwerlösliche Partikel bei der Ratte verursacht, würde beim Menschen nicht ablaufen. Folgerichtig müsste es einen humanspezifischen Mechanismus geben. Aber die Annahme, die Lungentumoren bei Ratte und Mensch würden durch unterschiedliche Mechanismen verursacht und der humanspezifische Mechanismus führe zu einem deutlich höheren Risiko, erscheint äußerst willkürlich, zumal da die GBS-Kanzerogenese nicht einmal für die Ratte eindeutig geklärt ist (s. 4.7). Infolgedessen bleibt nur die Alternative, entweder die „positiven“ epidemiologischen Dieselstudien als falsch positiv anzusehen und Fehlinterpretationen zuzuschreiben, wie es von vielen Autoren geschah, oder die Einwände gegen eine

Analogie zwischen Ratte und Mensch als unbegründet abzulehnen. Die Diskrepanz zwischen den epidemiologisch positiven Dieselstudien, verschiedenen Interpretationen und den Ergebnissen der Rattenexperimente veranschaulicht Abb. 9.

In den epidemiologischen Dieselstudien wurde die Exposition gegenüber anderen GBS nicht als möglicher Einflussfaktor berücksichtigt, weil eine Kanzerogenität der GBS bisher nur wenige Befürworter fand. Jedoch erscheint die Schlussfolgerung plausibel, dass das Exzess-Risiko zum größeren Teil durch die anderen GBS verursacht wurde, wenn von folgenden Expositionen ausgegangen wird: 0,25 mg Dieselruß /m³ (eingehende Begründung für diese Annahme in Pott und Roller, 1997), darüber hinausgehende Exposition gegenüber „Feinstaub“ 1 – 2 mg/m³. In diesem Zusammenhang ist auch die bisher nicht statistisch signifikant positive Studie im Kalibergbau zu erwähnen, da hier einerseits die höchsten Dieselrußexpositionen gemessen wurden, andererseits der Anteil an GBS klein war (Säverin *et al.*, 1998). Hier lässt sich nur spekulieren, dass die geringe Exposition gegenüber GBS nicht ausreichte, um die Dieselrußwirkung durch eine additive GBS-Wirkung statistisch signifikant in Erscheinung treten zu lassen.

4.10 Quarzhaltige Stäube

Ein Grubenstaub mit 16,7 % Quarz und 86 % Asche, der aus der Luft in einer Straße untertage gesammelt worden war, wurde in zwei Dosen instilliert, die insgesamt 10 und 20 mg Quarz in 60 und 120 mg Gesamtstaub enthielten. Dieser Grubenstaub hatte nicht nur eine erheblich geringere kanzerogene Wirkung als die gleiche Quarzdosis des reinen DQ 12, sondern auch eine etwas schwächere Wirkung als das gleiche Volumen der beiden anderen Grubenstäube mit geringerem Quarzgehalt (Ascheanteile etwa 40 und 60 %) und der beiden reinen Kohlenstäube (Asche 5 und 6 %) (Abb. 5a und b). Aufgrund dieser Ergebnisse haben wir auch die Grubenstäube *im Rahmen unserer Studie* als GBS bewertet und in die Berechnung der Dosis-Wirkungsbeziehungen einbezogen. Eine Erklärung dafür, dass der hohe Quarzanteil keine erkennbare spezifische Wirkung zeigte, findet sich in einer nahe liegenden Analogie zu dem bekannten Hemmeffekt der Begleitminerale auf die Quarzfibrogenität. Diese Zusammenhänge sind in dem sog. R2-Programm der Bergbau-Forschung eingehend untersucht worden. Die Ergebnisse wurden von Schlipkötter *et al.* (1982) zusammengefasst. Aus den Forschungsbefunden dieses Programms ergab sich neben vielem anderen, dass die Verwachsungen der Quarzoberfläche mit dem Mineralanteil im Grubenstaub ansteigen und dadurch die toxische Potenz der Quarzpartikeln sinkt („Maskierung“ der Quarzoberfläche).

In diesem Zusammenhang ist auch an die Möglichkeit einer schädlichen Wirkung einiger Metalle als Spurenstoffe im Kohlengrubenstaub zu denken, die in Umwelt-

stäuben vorkommen. Dort stehen sie im Verdacht, den Abwehrmechanismus in der Lunge zu schwächen, z.B. Cr, Fe, Ni, V, Mn (Antonini *et al.*, 2003). Eher ist allerdings damit zu rechnen, dass solche Metalle – soweit in einem Grubenstaub vorhanden – dort in ähnlicher Weise inaktiviert sind wie der Quarzanteil, aber nach der Kohleverbrennung im Abgas anders zu beurteilen ist. Auch beim Asbest wurde die bis in die sechziger Jahre bestehende Hypothese nicht bestätigt, bestimmte Metalle seien die Ursache der Asbest-Kanzerogenität. Analysen von Staubproben aus dem Steinkohlenbergbau legen zunächst keinen Verdacht auf bio-verfügbare, toxikologisch bedeutsame Metallanteile nahe (Armbruster *et al.*, 1987; Friedrichs, 1994). Sowohl die chemische als auch die physikalische Zusammensetzung von Grubenstäuben und den schwerlöslichen Anteilen von Stäuben der allgemeinen Außenluft dürften sehr unterschiedlich sein, so dass eine Analogiebetrachtung zur Kanzerogenität sich zunächst einmal auf den schwerlöslichen Staubvolumenanteil beschränken muss.

Schließlich stellt sich die Frage, inwieweit die Inaktivierung der Quarzoberfläche durch die Begleitminerale im Grubenstaub, die im 2½-jährigen Tierexperiment keinen kanzerogenen Quarzeffekt erkennen ließen, konstant bleibt oder sich während des Aufenthalts in der Lunge des Menschen im Verlaufe von Jahrzehnten verliert. Hierzu ergab sich aus Untersuchungen von Tourmann (1994) mit der Lasermikrosonden-Massenanalyse (LAMMA), dass in quarzreichen Grubenstäuben (Quarzgehalt bis 26 Gew.-%) die Nachweishäufigkeit von „reinen“ Quarzpartikeln typischerweise unter 1,5 % liegt. Tourmann schließt aus seinen Untersuchungen, dass eine Entmischung des Quarzes nach langfristiger Verweildauer in menschlichen Lungen bis zu 40 – 50 Jahren nicht stattfindet. Unter diesem Aspekt könnte die Extrapolation des Ergebnisses aus einem 2½-jährigen Rattenversuch auf das Menschenleben übertragbar sein.

Es sollte geklärt werden, ob die im Prinzip pathogene Oberfläche der Quarzanteile im Kohlengrubenstaub und möglicherweise auch in quarzhaltigen Stäuben anderer Herkunft durch die Begleitminerale tatsächlich über Jahrzehnte so weit inaktiviert bleibt, dass der Grenzwert für Quarz bis zu einem bestimmten Quarzanteil nicht eingehalten zu werden braucht, oder unter welchen Umständen der Quarz doch seine spezifische Wirkung in einer Größe entfaltet, die unter regulatorischem Aspekt von Bedeutung ist.

4.11 Spezifisch toxische granuläre bio-beständige Stäube

Während Quarz eine spezifisch toxische Oberfläche als Quarzeigenschaft aufweist, stellen die durch Beschichtung mit einem hydrophobierenden Stoff hergestellten Stäube ein anderes Problem spezifisch toxischer bio-beständiger granulärer Stäube dar. Aus dieser Stoffklasse haben wir hydrophobes ultrafeines Titandioxid

Relative kanzerogene Potenz von Diesel-Motor-Emissionen

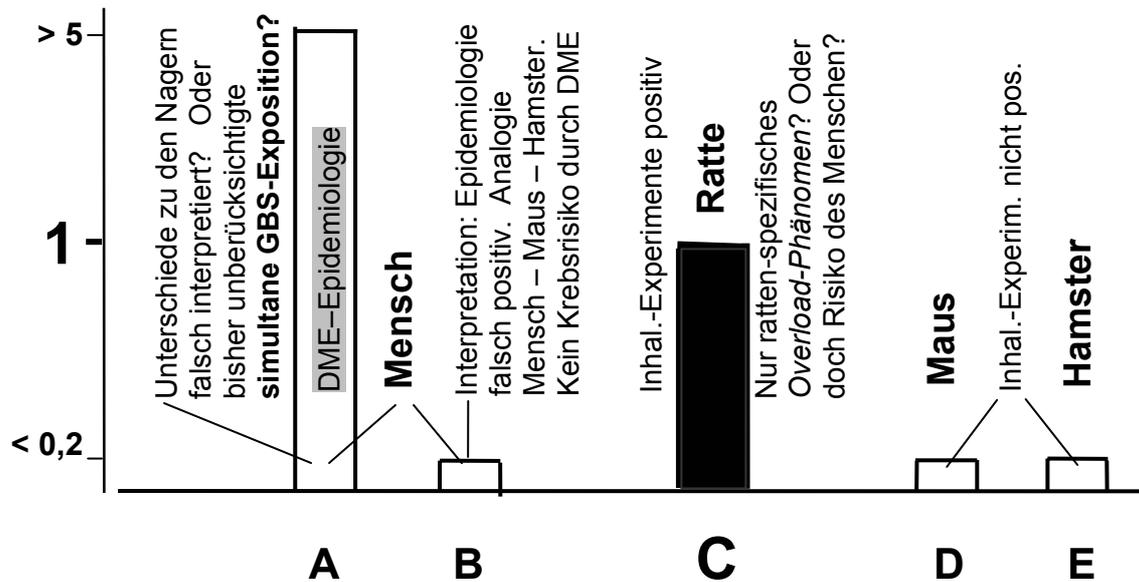


Abb. 9 - Widerspruch zwischen der hohen relativen kanzerogenen Potenz von Diesel-Motor-Emissionen (DME) in epidemiologisch positiven Lungenkrebsstudien (hohe Säule A) und der niedrigen relativen kanzerogenen Potenz von DME unter der Annahme einer Analogie zwischen Mensch, Maus und Hamster (niedrige Säulen B, D und E). Die verbreitete Annahme der Analogie zwischen B, D und E gründet auf der Vermutung, die Lungentumoren in der Rattenlunge würden durch das *Overload-Phänomen* verursacht, das – so die Hypothese – bei Mensch, Maus und Hamster praktisch nicht in Erscheinung träte. Folgerichtig werden die „positiven“ epidemiologischen Studien (UBA, 1999) als *nicht oder falsch positiv* beurteilt (Cox, 1997; Crump, 1999; ILSI, 2000; Stöber and Abel, 1998; Watson and Valberg, 1996). Falls man aber die in einigen Studien bei beruflich hoch Exponierten gefundene statistisch signifikant erhöhte Lungenkrebshäufigkeit allein der Dieselruß-Exposition zuschreibt, ist die kanzerogene Potenz des Dieselrußes beim Menschen nach äquivalenter Exposition in den meisten Ableitungen deutlich höher als bei der Ratte (Unit risk Mensch: eher größer als 5×10^{-4} pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$, Ratte eher kleiner als 1×10^{-4} pro $\mu\text{g}/\text{m}^3$; UBA, 1999). Für die Ratte ist die Wirkungsstärke in der Abbildung gleich 1 gesetzt (Säule C). Ist die Ratte im Vergleich zum Menschen zu empfindlich, oder ist sie nicht empfindlich genug?

Bei der Interpretation der positiven epidemiologischen Dieselstudien wurde eine zusätzliche kanzerogene Wirkung der GBS bisher nicht in Betracht gezogen; GBS sind in unterschiedlicher Konzentration an den Arbeitsplätzen mit hoher Dieselrußexposition gleichzeitig vorhanden. Kann die GBS-Exposition den Unterschied zwischen den beiden Säulen A und C erklären (s. Text)? Geht man von einer Analogie des kanzerogenen Effektes nach Exposition gegenüber Dieselruß und anderen GBS bei Mensch, Maus und Hamster aus (Säulen B, D, E), wie viele Autoren annehmen (Driscoll, 1996; Oberdörster, 1995; McClellan, 1997; Mauderly, 1996), dann können die epidemiologischen „Diesel-Studien“ nur als *falsch positiv* interpretiert werden. Dagegen sprechen jedoch die im Abschnitt 4.9.9 beschriebenen Argumente.

untersucht und beobachteten überraschend eine hohe akute Mortalität. In einem weiteren Versuch zeigte sich ein großer Unterschied zum hydrophilen TiO₂-UF (Tab. 4). Die Hydrophobie als solche dürfte die starke akut toxische Wirkung nicht verursacht haben, denn mehrere der 19 Stäube waren hydrophob: Ruße, Toner, Kohlenstäube. Sie führten nicht zu akuten Todesfällen. Für beschichtete Stäube sollte der Allgemeine Staubgrenzwert daher so lange nicht gelten, bis ausreichende toxikologische Untersuchungen für jeden Einzelfall belegen, dass eine Einstufung in die Gruppe der GBS gerechtfertigt ist. Anderenfalls müsste ein individueller MAK-Wert festgesetzt werden.

5 Literatur

- Ames, B.N.: Endogenous DNA damage as related to cancer and aging. *Mutation Res.*, 214 (1989), 41-46. Zitiert nach Simons (1995)
- Ames, B.N.; Gold, L.S.: To many rodent carcinogens: mitogenesis increases mutagenesis. *Science* 249 (1990), 970-971. Zitiert nach Mauderly (1996)
- Antonini, J.; Roberts, J.; Taylor, M.; Clarke, R.: The effects of metals on innate lung defense mechanisms. In: *Effects of Air Contaminants on the Respiratory Tract – Interpretations from Molecules to Meta Analysis*. 9th International Symposium (INIS), June 11 - 14, 2003. Abstract A 30
- Armbruster, L.; Bozorg-Zadeh, F.; Emmerichs, M.: Untersuchungen zur Korngrößenverteilung von Grubenstäuben und deren Mineralzusammensetzung. In: *Der Minister für Wirtschaft, Mittelstand und Technologie des Landes Nordrhein-Westfalen* (Hrsg.): *Ergebnisse von Untersuchungen auf dem Gebiet der Staub- und Silikosebekämpfung im Steinkohlenbergbau*. Arbeitsgemeinschaft Staub- und Silikosebekämpfung, Silikosebericht Nordrhein-Westfalen, Band 16, 103-111. Essen: Steinkohlenbergbauverein 1987
- Barig, A.; Blome, M.: Allgemeiner Staubgrenzwert. *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft* 61 (2001), 487-492
- Bayer: *Gebrauchsinformationen. Packungsbeilage zu Avalox® 400 mg Filmtabletten*. Pharmazeutischer Unternehmer: Bayer Vital GmbH, Leverkusen. Stand der Information: Juli 2001
- Becklake, M.R.: Workplace pollution and airway disease: evidence from community and workforce based studies. In: *Mohr, U.; Dungworth, D.L.; Brain, J.D.; Driscoll, K.E.; Grafström, R.C.; Harris, C.C. (eds): Relationships Between Respiratory Disease and Exposure to Air Pollution*. ILSI monographs. Washington, D.C: ILSI Press 1998, 133-145
- Bellmann, B.; Muhle, H.; Creutzenberg, O.; Dasenbrock, C.; Kilpper, R.; McKenzie, J.C.; Morrow, P.; Mermelstein, R.: Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 17 (1991), 300-313
- Bellmann, B.; Creutzenberg, O.; Ale, H.; Mermelstein, R.: Models of deposition, retention and clearance of particles after dust overloading of lungs in rats. *Ann. Occup. Hyg.* 38, Suppl. 1 (1994), 303-311
- Bolm-Audorff, U.; Möhner, M.; Morfeld, P.; Ahrens, W.; Brüske-Hohlfeld, I.; Jöckel, K.H.; Pohlhablen, H.; Wichmann, H.E.: Lungenkrebsrisiko durch berufliche Exposition - Quarzstäube. In *Jöckel, K.H.; Brüske-Hohlfeld, I.; Wichmann, H.E. (Hrsg.): Lungenkrebsrisiko durch berufliche Exposition*. Fortschritte der Epidemiologie. Ecomed, Landsberg/Lech 1998, 186-209
- Borm, P.J.A.; Höhr, D.; Steinfartz Y.; Zeitträger, I.; Albrecht, C.: Chronic inflammation and tumor formation in rats after intratracheal instillation of high doses of coal dusts, titanium dioxides, and quartz. *Inhal. Toxicol.* 12 (Suppl. 3) (2000), 225-231
- Boorman, G.A.; Brockmann, M.; Carlton, W.C.; Davis, J.M.G.; Dungworth, D.L.; Hahn, F.F.; Mohr, U.; Richter-Reichhelm, H.-B.; Turusov, V.S.; Wagner, B.M.: Classification of cystic keratinizing squamous lesions of the rat lung: report of a Workshop. *Toxicol. Pathol.* 24 (1996), 564-572
- Brockmann, M.; Fischer, M.; Müller, K.-M.: Exposure to carbon black: a cancer risk? In: *Arch. Occup. Environ. Health*, 71 (1998), 85-99
- Brown, A.M.; Christie, D.; Taylor, R.; Secombe, M.A.; Coates, M.S.: The occurrence of cancer in a cohort of New South Wales coal miners. *Austr. NZ J Public Health* 21 (1997), 29-32
- Brüske-Hohlfeld, I.; Möhner, M.; Ahrens, W.; Pohlhablen, H.; Heinrich, J.; Kreuzer, M.; Jöckel, K.-H.; Wichmann, H.E.: Lung cancer risk in male workers occupationally exposed to diesel motor emissions in Germany. *Am. J. Ind. Med.* 36 (1999), 405-414
- Cheng, Y.S.; Yeh, H.C.; Mauderly, J.L.; Mokler, B.V.: Characterization of diesel exhaust in a chronic inhalation study. *Am. Ind. Hyg. Ass. J.* 45 (1984), 547-555
- Cohen, S.M.: Human relevance of animal of animal carcinogenicity studies. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 21 (1995), 75-80. Zitiert nach Mauderly (1996)
- Cox, L.A. jr.: Does Diesel Exhaust Cause Human Lung Cancer? *Risk Analysis*, 17 (1997), 807-829
- Dasenbrock, C.; Peters, L.; Creutzenberg, O.; Heinrich, U.: The carcinogenic potency of carbon particles with and without PAH after repeated intratracheal administration in the rat. *Toxicol. Lett.* 110 (1996), 1-7
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft, Hrsg.): *MAK- und BAT-Werte-Liste 2001*. Mitteilung 37 der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe vom 1. Juli 2001, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2001
- Degussa (Ed.): *Pigmentruße/Pigment Blacks. Technische Daten/ Technical Data*. PT 10-27-4-194 Ha Prosp.Nr. 1000/0/1. Frankfurt am Main, 1994
- Driscoll, K.E.: Role of inflammation in the development of rat lung tumors in response to chronic particle exposure. *Inhal. Toxicol.* 8 (1996), Suppl. 139-153
- Driscoll, K.E.; Deyo, L.C.; Carter, J.M.; Howard, B.W.; Hassenbein, D.G.; Bertram, T.A.: Effects of particle exposure and particle-elicited inflammatory cells on mutation in rat alveolar epithelial cells. *Carcinogenesis* 18 (1997), 423-430
- Driscoll, K. E.; Costa, D. L.; Hatch, G.; Henderson, R.; Oberdörster, G.; Salem, H.; Schlesinger, R. B.: Intratracheal instillation as an exposure technique for the evaluation of respiratory tract toxicity: uses and limitations. *Toxicol. Sciences* 55 (2000), 24-35
- Driscoll, K.E.; Carter, J.M.; Borm, P.J.A.: Antioxidant defense mechanisms and the toxicity of fibrous and nonfibrous particles. *Inhal. Toxicol.* 14 (2002), 101-118
- Dungworth, D.L.; Hahn, F.; Hayashi, Y.; Keenan, K.; Mohr, U.; Rittinghausen, S.; Schwartz, L.: Respiratory system. In: *Mohr, U. (Hrsg.): International classification of rodent tumours. Part 1: The rat. 1. Respiratory system, IARC Sci. Publ. No. 122*. Lyon: International Agency for Research on Cancer. 1992
- Ebbesen, P.: Cancer and normal ageing. In: *Mechanisms of ageing and development*, 25 (1984) 269-283. Elsevier Scientific Publishers Ireland Ltd. 1984
- Eickhoff, K.-P.: Bestimmung von Dichte, spezifischer Partikeloberfläche und Partikelgröße. Prüfbericht Nr. B0104014 der Gesellschaft für Oberflächen- und Festkörperuntersuchungen mbH für die Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Dortmund. Hamburg 2001.
- Einbrodt, H.J.: Der Aussagewert von Lungenstaubanalysen. *Arbeitsmed. - Sozialmed. - Arbeitshyg.* 4 (1967), 142-143

- Einbrodt, H.J.; Dohmes, H.B.: Die Staubablagerung in den Lungen weiblicher Bewohner industrieller Ballungszentren. *Arch. Hyg. Bakt.* 150 (1967), 413-418
- EPA (United States Environmental Protection Agency): Guidelines for carcinogen risk assessment (51 FR 33993, September 24, 1986). Published by the Bureau of National Affairs, Inc., Washington, D.C. 20037
- EPA (United States Environmental Protection Agency): Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.4200 Carcinogenicity. EPA 712-C-98-211, August 1998
- Ernst, H.; Rittinghausen, S.; Bartsch, W.; Creutzenberg, O.; Dasenbrock, C.; Görlitz, B.; Hecht, M.; Kairies U.; Muhle H.; Müller M.; Heinrich U.; Pott, F.: Pulmonary inflammation in rats after intratracheal instillation of quartz, amorphous SiO₂, carbon black, and coal dust and the influence of poly-2-vinylpyridine-N-oxide (PVNO). *Exp. Toxic. Pathol.* 54 (2002), 109-126
- Friedrichs, K.H.: Bericht über die elektronenmikroskopische Einzelpartikelanalyse. In: Charakterisierung von Grubenstäuben hinsichtlich ihrer spezifischen Schädlichkeit – Staubmessung und -analyse. Wissenschaftlicher Abschlussbericht über die Forschungsvereinbarung Nr. 7263-02/079/01 für die Kommission der Europäischen Gemeinschaften < Generaldirektion V. Berichtszeitraum 07.05.1991 bis 30.04.1994. Essen: DMT 1994, getrapagiert
- GefStV (Gefahrstoffverordnung): Verordnung zum Schutz vor gefährlichen Stoffen. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, RW 14, Wirtschaftsverlag NW, Bremerhaven (2000)
- Geigy A.G., J.R., Pharma (Hrsg.): Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen. 7. Aufl. Redaktion: Diem, K.; Lentner, C.. Basel (1968)
- Greim H. (Hrsg): Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen) der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Allgemeiner Staubgrenzwert. 25. Lieferung 1997. Wiley-VCH, Weinheim (1997)
- Greim, H. (Hrsg): Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen) der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Steinkohlen-grubenstaub. 27. Lieferung 1998. Wiley-VCH, Weinheim (1998)
- Greim, H. (Hrsg): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen) der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Siliciumdioxid, kristallin. Quarz-, Cristobalit-, Tridymitstaub (alveolengängiger Anteil). 29. Lieferung 1999. Wiley-VCH, Weinheim (1999)
- Greim, H.; Borm, P.; Schins, R.; Donaldson, K.; Driscoll, K.; Hartwig, A.; Kuempel, E.; Oberdörster, G.; Speit, G.: Toxicity of fibers and particles – Report of the workshop held in Munich, Germany, 26 – 27 October 2000. *Inhal. Toxicol.* 13 (2001), 737-754
- Guschall, W.-R.; Liebetreu, G.; Dittrich I.; Schirpke, C.: Erkrankungsdauer und Todesursachen bei Patienten mit fibrosierender Alveolitis/Lungenfibrose. *Atemw.-Lungenkrkh.* 24 (1998), 110-116
- Hartwig, A.: Role of DNA Repair in Particle- and fiber-induced lung injury. *Inhal. Toxicol.* 14 (2002), 91-100
- HEI (Health Effects Institute): Diesel exhaust: a critical analysis of emissions, exposure, and health effects. A special report of the institute's Diesel working group. Health Effects Institute, Cambridge, MA (1995)
- Heinrich, U.; Dungworth, D.L.; Pott, F.; Peters, L.; Dasenbrock, C.; Levsen, K.; Koch, W.; Creutzenberg, O.; Schulte, A.: The carcinogenic effects of carbon black particles and tar-pitch condensation aerosol after inhalation exposure of rats. *Inhaled Particles VII. Ann. Occup. Hyg.* 38 (1994) Suppl. 1, 351-356
- Heinrich U.; Fuhst, R.; Rittinghausen, S.; Creutzenberg, O.; Bellmann B.; Koch, W.; Levsen, K.: Chronic inhalation exposure of Wistar rats and two different strains of mice to Diesel engine exhaust, carbon black and titanium dioxide. *Inhal. Toxicol.* 7 (1995), 533-556
- Heinrich, U.; Pott F.; Rittinghausen, S.: Comparison of chronic inhalation effects in rodents after long-term exposure to either coal oven flue gas mixed with pyrolyzed pitch or Diesel engine exhaust. In: Ishinishi, N.; Koizumi, A.; McClellan, R.O.; Stöber, W. (eds): *Carcinogenic and Mutagenic Effects of Diesel Engine Exhaust*; 441-457. Amsterdam, New York, Oxford: Elsevier Sci. Publ. (Biomedical Div.) (1986) (= Developments in Toxicology and Environmental Science. Vol. 13.)
- Hext, P.M.: Current perspectives on particulate induced pulmonary tumours. *Human Exp. Toxicol.* 13 (1994), 700-715
- Hodgson, J.T.; Jones, R.D.: A mortality study of carbon black workers employed at five United Kingdom factories between 1947 and 1980. *Arch. environ. Health*, 40 (1985), 261-268. Zitiert nach IARC (1996)
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 49: Chromium, Nickel and Welding. Nickel and Nickel Compounds 257-445. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Lyon (1990)
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 58: Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufacturing Industry. Cadmium and Cadmium Compounds 119-237. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Lyon (1993)
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 65: Printing Processes and Printing Inks, Carbon Black and Some Nitro Compounds. Carbon Black 149-262. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Lyon (1996)
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 68: Silica, Some Silicates, Coal Dust and para-Aramid Fibrils. Silica. 41-242. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Lyon (1997)
- Ichinose, T.; Yajima, LY.; Nagashima, M.; Takenoshita, S.; Nagamachi, Y.; Sagai, M.: Lung carcinogenesis and formation of 8-hydroxy-deoxyguanosine in mice by diesel exhaust particles. *Carcinogenesis* 18 (1997), 185-192
- ILSI Risk Sciences Institute Workshop Participants: The relevance of the rat lung response to particle overload for human risk assessment: A workshop consensus report. *Inhal. Toxicol.* 12 (2000), 1-17
- Iwai, K.; Adachi, S.; Takahashi, M.; Möller, L.; Udagawa, T.; Mizuno, S.; Sugawara, I.: Early oxidative DNA Damages and late development of lung cancer in Diesel exhaust-exposed rats. *Envir. Research*, A 84 (2000) 255-264
- Johnston, C.J.; Driscoll, K.E.; Finkelstein, J.N.; Baggs, R.; O'Reilly, M.A.; Carter, J.; Gelein, R.; Oberdörster, G.: Pulmonary chemokine and mutagenic responses in rats after subchronic inhalation of amorphous and crystalline silica. *Toxicol. Sci* 56 (2000), 405-413
- Kawabata, Y.; Iwai, K.; Udagawa, T.; Tukagoshi, K.; Higuchi, K.: Effects of diesel soot on unscheduled DNA synthesis of tracheal epithelium and lung tumor formation. In: Ishinishi, N.; Koizumi, A.; McClellan, R.O.; Stöber W. (Eds.): *Carcinogenic and mutagenic effects of Diesel engine exhaust*. Amsterdam, New York, Oxford: Elsevier Sci. Publ. (Biomedical Div.) 1986. 213-222. (= Developments in Toxicology and Environmental Science. Vol. 13)
- Klingenberg, H.; Schürmann, D.; Lies K.-H.: Dieselmotorabgas - Entstehung und Messung. In: *Krebserzeugende Stoffe in der Umwelt - Herkunft, Messung, Risiko, Minimierung*. VDI-Berichte 888. -Düsseldorf: VDI-Verl. 1991, 119-131
- Kuempel, E.D.: Comparison of human and Rodent lung dosimetry models for particle clearance and retention. *Drug and Chemical Toxicology*, 23 (2000), 203-222
- Lee, K.P.; Trochimowicz, H.J.; Reinhardt, C.F.: Pulmonary response of rats exposed to titanium dioxide (TiO₂) by inhalation for two years. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 79 (1985), 179-192

- Lee, K.P.; Henry, N.W. III, Trochimowicz, H.J.; Reinhardt, C.F.: Pulmonary response to impaired lung clearance in rats following excessive TiO₂ dust deposition. *Environ. Res.* 41 (1986), 144-167
- Martin, J.C.; Daniel, H.; Le Bouffant, L.: Short- and long-term experimental study of the toxicity of coal-mine dust and of some of its constituents. In: *Inhaled Particles IV*, Vol. 1. Walton, W. (edr). Oxford: Pergamon Press 1977, 361-371
- Mauderly, J.L.: Lung overload: The dilemma and opportunities for resolution. In: Mauderly J.L.; McCunney R.J. (eds): *Particle overload in the rat lung and lung cancer: Implications for human risk assessment*. Bristol, PA: Taylor and Francis (1996), 1-28
- Mauderly, J.L.: Contribution of inhalation bioassays to the assessment of human health risks from solid airborne particles. In: Mohr, U.; Dungworth, D.L.; Mauderly, J.L.; Oberdörster G. (eds.): *Toxic and carcinogenic effects of solid particles in the respiratory tract*. ILSI-Monographs. Washington, D.C.: ILSI Press 1994, 355-365
- Mauderly, J.L.; Jones, R.K.; Griffith, W.C.; Henderson, R.F.; McClellan, R.O.: Diesel exhaust is a pulmonary carcinogen in rats exposed chronically by inhalation. *Fundam. Appl. Toxicol.* 9 (1987), 208-221
- McClellan, R.O.: Lung cancer in rats from prolonged exposure to high concentrations for carbonaceous particles: implications for human risk assessment. In: Mauderly J.L.; McCunney R.J. (eds): *Particle overload in the rat lung and lung cancer: Implications for human risk assessment*. Bristol, PA: Taylor and Francis (1996), 193-226
- McConnell: E.E.: Maximum tolerated dose in Particulate Inhalation studies: a pathologist's point of view. In: Mauderly J.L.; McCunney R.J. (eds): *Particle overload in the rat lung and lung cancer: Implications for human risk assessment*. Bristol, PA: Taylor and Francis (1996), 111-123
- Mehnert, W.H., M. Smans, C.S. Muir, M. Möhner, D. Schön, P. Bernstein, W. Staneczek, L. Beckmann: *Atlas der Krebsinzidenz in der ehemaligen Deutschen Demokratischen Republik 1978-1982. Atlas of cancer incidence in the former German Democratic Republic 1978-1982*. IARC Sci. Publ. No. 106. BGA-Schriften 4/1992.- München: MMV Medizin Verl., Oxford, New York, N.Y.: Oxford University Press 1992.
- Miller, F.J.: Dosimetry of particles in laboratory animals and humans in relationship to issues surrounding lung overload and human health risk assessment: a critical review. *Inhal. Toxicol.* 12 (2000), 19-57
- Morfeld, P.; Lampert, K.; Ziegler, H.; Stegmaier, C.; Dhom, G.; Piekarski, C.: Längsschnittstudie zum Einfluß der Bergarbeiter-pneumokoniose auf die Lungenkrebsmortalität von unter Tage tätigen Bergleuten im deutschen Steinkohlenbergbau. In: Borsch-Galetke, E.; Struwe, F. (Hrsg.): *Psychosomale Belastungen und Beanspruchungen im Wandel von Arbeitswelt und Umwelt. Kanzerogenese und Synkanzerogenese. Dokumentationsband über die 37. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin in Wiesbaden vom 12. bis 15. Mai 1997*. Fulda: Rindt-Druck 1997, 133-137
- Morrow, P.E.; Muhle H.; Mermelstein R.: Chronic inhalation study findings as a basis for proposing a new occupational dust exposure limit. *J. Am. Coll. Toxicol.* 10 (1991), 279-289
- Mossman, B.T.: Mechanisms of action of poorly soluble particulates in overload-related lung pathology. In: Mauderly J.L.; McCunney R.J. (eds): *Particle overload in the rat lung and lung cancer: Implications for human risk assessment*. Bristol, PA: Taylor and Francis (1996), 193-226
- Muhle, H.; Bellmann, B.; Creutzenberg, O.; Dasenbrock, C.; Ernst, H.; Kilpper, R.; Mackenzie, J.C.; Morrow, P.; Mohr, U.; Takenaka, S.; Mermelstein, R.: Pulmonary response to toner upon chronic inhalation exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 17 (1991), 280-299
- Müller, K.-M.; Reichel, B.: Heterogenität der Lungentumoren: Wie sinnvoll ist das Grading? *Verh.Dt.Ges.Innere Med.*, 96 (1990), 220-228.
- Müller, K.-M.; Theile, A.: Lungentumoren, Pathologisch-anatomische Diagnostik. *Internist* 35 (1994), 710-723
- Müller, K.-M.; Wiethage, Th.: Quarz und Lungentumoren – Daten und Fakten des Pathologen. *Pneumologie* 54 (2000), 24-31
- Nagelschmidt G.: The relation between lung dust and lung pathology in pneumoconiosis. *Brit. J. industr. Med.* 17 (1960), 247-259
- Nagelschmidt G.; Rivers, D.; King, E.J.; Trevella, W.: Dust and collagen content of lungs of coal-workers with progressive massive fibrosis. *Brit. J. industr. Med.* 20 (1963), 181-191
- National Toxicology Program (NTP). *Toxicology and carcinogenesis studies of talc in F344/N Rats and B6C3F₁ Mice*. Technical Report Series No. 421, NIH Publ. No. 93-315 (1993)
- Nikula, K.J.: Rat lung tumors induced by exposure to selected poorly soluble non-fibrous particles. *Inhal. Toxicol.* 12 (2000), 97-119
- Nikula, K.J.; Avila, K.J.; Griffith, W.C.; Mauderly, J.L.: Lung tissue responses and sites of particle retention differ between rats and cynomolgus monkeys exposed chronically to diesel exhaust and coal dust. *Fundam. Appl. Toxicol.* 37 (1997), 37-53
- Nikula, K.J.; Snipes, M.B.; Barr, E.B.; Griffith, W.C.; Henderson, R.F.; Mauderly, J.L.: Comparative pulmonary toxicities and carcinogenicities of chronically inhaled Diesel exhaust and carbon black in F344 rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 25 (1995), 80-94
- Oberdörster, G.: Lung particle overload: Implications for occupational exposures to particles. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 27 (1995), 123-135
- Oberdörster, G.: Significance of particle parameters in the evaluation of exposure-dose-response relationships of inhaled particles. *Inhal. Toxicol.* 8 (1996) Suppl., 73-89
- Oberdörster, G.: Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles. *Int Arch Occup Environ Health* 74 (2001), 1-8
- Oberdörster, G.: Toxicokinetics and effects of fibrous and nonfibrous Particles. *Inhal. Toxicol.*, 14 (2002), 29-56
- OSHA (Occupational Safety and Health Administration) *Occupational exposure to methylene chloride*. OSHA Federal Register # 62:1494-1619. FR Doc. 97-198 Filed 1-9-97. http://www.osha-slc.gov/FedReg_osha_data/FED19970110.html (1997).
- Panos, R.J.; Mortenson, R.L.; Niccoli, S.A.; King, T.E. jr: *Clinical Deterioration in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Causes and Assessment*. *Amer. J. Medizin*, 88, 396-404
- Pott, F.; Dungworth, D.L.; Heinrich, U.; Muhle, H.; Kamino, K.; Germann, P.G.; Roller M.; Rippe R.M.; Mohr U.: Lung tumours in rats after intratracheal instillation of dusts. (*Inhaled Particles VII*). *Ann. Occup. Hyg.* 38 Suppl. 1 (1994), 357-363
- Pott, F.; Heinrich, U.: VI-2 Staub und Staubinhaltsstoffe/Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH). In: Wichmann, H.-E., Schlipkötter, H.-W., Fülgraff, G. (Hrsg.) *Handbuch der Umweltmedizin: Toxikologie, Epidemiologie, Hygiene, Belastungen, Wirkungen, Diagnostik, Prophylaxe.- Landsberg/Lech: ecomed 1992. VI-2, 1-24. (Losebl.-Ausg.)*
- Pott, F.; Roller, M.: Die krebserzeugende Wirkung von Fasern unter besonderer Berücksichtigung der Inhalationsversuche. Bericht über das Projekt 1217 der Bundesanstalt für Arbeitsschutz (1993)
- Pott, F.; Roller, M.: Relevance of non-physiologic exposure routes for carcinogenicity studies of solid particles. In: U. Mohr *et al.* (Eds) *Toxic and Carcinogenic Effects of Solid Particles in the Respiratory Tract.- ILSI-Monographs*. Washington, D.C.: ILSI-Press (1994), 109-125
- Pott, F.; Roller M.: Aktuelle Daten und Fragen zur Kanzerogenität von festen Partikeln aus Abgas von Dieselmotoren und anderen Quellen. *Zbl. Hyg.* 200 (1997), 223-280
- Pott, F.; Roller M.: Carcinogenicity of poorly soluble particles in rats – in man too? In: Heinrich, U.; Mohr U. (eds): *Relationships between acute and chronic effects of air pollution*. ILSI Monographs. Washington D.C.: ILSI-Press (2000), 235-253
- Pott, F.; Roller, M.: Beschreibung und Auswertung einer Kanzerogenitätsstudie mit 19 Stäuben an Ratten. Schlussbericht über das Projekt F1843 der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Dortmund (2002)
- Pott, F.; Roller, M.; Althoff, G.H.; Höhr, D.; Friemann, J.: Acute lung toxicity of hydrophobic titanium dioxide in an intratracheal carcinogenicity study with nineteen dusts in rats. In Vostal J.J. (edr), *Health effects of particulate matter in ambient air*.

- Proceedings of an International Conference held in Prague, Czech Republic, April 23-25, 1997. VIP-80. Czech Medical Assoc. J.E. Purkyne, Praha. Pittsburgh, PA: Air and Waste Management Assoc. 1998, 301-307
- Pott, F.; Roller M.; Althoff, G.-H.; Rittinghausen, S.; Ernst, H.; Mohr, U.: Lung tumors in rats after repeated intratracheal instillation of coal dusts. In: Heinrich, U.; Mohr, U. (eds): Relationships between acute and chronic effects of air pollution. ILSI Monographs. Washington DC: ILSI Press (2000), 409-413
- Pott, F.; Ziem, U.; Reiffer, F.-J.; Huth, F.; Ernst, H.; Mohr, U.: Carcinogenicity studies on fibres, metal compounds, and some other dusts in rats. *Exp. Pathol. [Jena]* 32 (1987), 129-152
- Ramdohr, P; Strunz, H.: Klockmann's Lehrbuch der Mineralogie. Ferd. Enke Verlag, Stuttgart, 1967
- RITA: Registry of Industrial Toxicology Animal-Data, Hannover, Germany (1995). Zitiert nach Rittinghausen *et al.* (1996)
- Rittinghausen, S.; Dungworth, D.L.; Ernst, H.; Mohr, U.: Naturally Occurring Pulmonary Tumors in Rodents. In: Jones T.C.; Dungworth D.L.; Mohr, U. (eds): Respiratory System, Second Edition. Springer Verlag, Heidelberg (1996), 183-206
- Rödelsperger, K.; Brückel, B.; Podhorsky, S.; Dahmann, D.; Hartfiel, G.D.; Woitowitz, H.J.: Characterisation of ultrafine particles by electron microscopy. In: Heinrich, U.; Mohr, U. (eds): Crucial Issues in Inhalation Research - Mechanistic, Clinical and Epidemiologic. Fraunhofer IRB Verlag, Stuttgart (2002), 221-232
- Roller, M.: Comment to the paper of Driscoll, K.E.: Role of inflammation in the development of rat lung tumors in response to chronic particle exposure. *Inhal. Toxicol.*, 8 Suppl. 139-153, (1996). Letter to the Editor. *Inhal. Toxicol.* 10 (1998), 173-178
- Roller, M.: Lung Tumor Risk from Silica Containing Dusts – In Some Cases Higher in Humans than in Rats. In: Heinrich, U.; Mohr U. (Hrsg.): Crucial Issues in Inhalation Research – Mechanistic, Clinical and Epidemiologic. INIS Monographs. Stuttgart: Fraunhofer IRB Verlag, Stuttgart (2002), 295-307
- Roller, M.: Risikobetrachtungen bei der Übertragung tierexperimenteller Daten zur Kanzerogenität und Fibrogenität durch Quarz auf den Menschen. In: Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA, Ed.) Quarz – Einstufung, Dosis-Wirkungs-Beziehungen. Workshop vom 07./08. März 2002 in Berlin. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Tb131. Bremerhaven: Wirtschaftsverlag NW. 2003a. S. 174-195. http://www.baua.de/info/tb02_03/tb131.htm
- Roller, M.: Dose-response relationships of granular bio-durable dusts in rat lungs: does a cancer threshold exist? *Eur.J.Onc.*, submitted for publication (2003b)
- Säverin R.; Bränlich A.; Enderlein G.; Heuchert G.: Kohortenstudie zum Einfluß von Dieselmotoremissionen auf die Lungenkrebsmortalität im Kalibergbau (AbSchlussbericht). Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Forschung FB 805. Wirtschaftsverl. NW, Verl. f. neue Wissenschaft, Bremerhaven (1998)
- Schlipkötter, H.-W.; Molik, B.; Hilscher, W.; Bruch, J.: Spezifische Schädlichkeit von Feinstäuben des Steinkohlenbergbaus. In: Umwelthygiene. Gesellschaft zur Förderung der Lufthygiene und Silikoseforschung e.V., Düsseldorf (Hrsg) Medizinisches Institut für Umwelthygiene, Jahresbericht 1981 (1982), Band 14: 149-168
- Schlüter, G.: Stellungnahme des Beraterkreises Toxikologie des AGS zur Frage der Einstufung von kristallinem Siliziumdioxid (Quarz [14808-60-7] und Cristobalit [14464-46-1] in Form von alveolengängigen Stäuben. In: Quarz – Einstufung, Dosis-Wirkungs-Beziehungen. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Tagung Tb 131. Hrsg. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin Dortmund/Berlin/Dresden. Verlag für neue Wissenschaft, Bremerhaven (2003), 109-133
- Schlesinger, B.; Lippmann, M.: Selective particle deposition and bronchogenic carcinoma. *Envir. Res.* 15 (1978), 424-431
- Simons, J.W.I.M.: Genetic, epigenetic, dysgenetic, and non-genetic mechanisms in tumorigenesis. *Critical Rev. in Oncogenesis* 6 (1995), 261-273
- Stöber, W.; Abel, U.R.: Lung cancer due to Diesel soot particles in ambient air? A critical appraisal of epidemiological studies addressing this question. *Int.Arch.Occup.Environ.Health*, 68 (1996) (Suppl.), 3-61
- Takemoto, K.; Yoshimura, H.; Katayama, H.: Effects of chronic inhalation exposure to Diesel exhaust on the development of lung tumors in di-iso-propanol-nitrosamine-treated F344 rats and newborn C57BL and ICR mice. In: Carcinogenic and mutagenic effects of Diesel engine exhaust; 311-327. Eds : Ishinishi, N.; Koizumi, A.; McClellan, R.O.; Stöber, W.: Developments in Toxicology and Environmental Science. Vol. 13. Elsevier Sci. Publ. (Biomed. Div.), Amsterdam, New York, Oxford 1986 (= Developments in Toxicology and Environmental Science. Vol. 13.)
- Tourmann, J.L.: Bericht über die LAMMA-Untersuchungen. In: DMT-Gesellschaft für Forschung und Prüfung mbH (Hrsg.): Charakterisierung von Grubenstäuben hinsichtlich ihrer spezifischen Schädlichkeit (Staubmessungen). Wissenschaftlicher Abschlussbericht über die Forschungsvereinbarung Nr. 7263-02/079/01 für die Kommission der Europäischen Gemeinschaften. Berichtszeitraum 07.05.1991 bis 30.04.1994. Essen: DMT 1994, getrapagiert
- Tran, C.L.; Buchanan, R.T.; Cullen R.T.; Searl, A.; Jones, A.D.; Donaldson, K.: Inhalation of poorly soluble particles. II. Influence of particle surface area on inflammation and clearance. *Inhal. Toxicol.* 12 (2000), 1113-1126
- TRGS 900 (Technische Regeln für Gefahrstoffe: Grenzwerte in der Luft am Arbeitsplatz – Luftgrenzwerte (TRGS 900). BARb.BI (2001), 86-89
- UBA. Umweltbundesamt (Hrsg.): Durchführung eines Risikovergleichs zwischen Dieselmotoremissionen und Ottomotoremissionen hinsichtlich ihrer kanzerogenen und nicht-kanzerogenen Wirkungen. Berichte 2/99 - Forschungsbericht 297 61 001/01. Red. Fachgebiet II 1.4. Durchführende Inst.: Fraunhofer Institut für Toxikologie und Aerosolforschung. Bearb.: Mangelsdorf, I. (Koordination); Aufderheide, M.; Boehncke, A.; Melber, C.; Rosner, G.; Heinrich, U.; Höpfner, U.; Borken, J.; Patyk, A.; Pott, F.; Roller, M.; Schneider, K.; Voß, J.-U.. Report Nr. UBA FB 99-033. Erich Schmidt Verlag, Berlin (1999)
- Wardenbach, P.; Pott, F.; Woitowitz, H.-J.: Differences between classification of man-made vitreous fibres (MMVF) according to the European directive and German legislation: analysis of scientific data and implications for worker protection. *Eur.J.Oncol.* 5, suppl. 2 (2000), 111-118
- Watson, A. Y.; Valberg, P. A.: Particle-induced lung tumors in rats: Evidence for species specificity in mechanisms. *Inhal. Toxicol.* 8 Suppl. (1996), 227-257
- Weast, R.C.; Lide D.R.; Astle, M.; Beyer, W.H. (Hrsg.): CRC Handbook of Chemistry and Physics. Boca Raton, Florida: CRC Press (1989)
- WHO (World Health Organization): Asbestos and other natural mineral fibres, IPCS International Programme on Chemical Safety, (Environmental Health Criteria 53), (United Nations Environment Programme, International Labour Organization, World Health Organization, eds) World Health Organization, Geneva (1986)
- Woitowitz, H.-J.; Lange, H.-J.; Dudeck, J.; Rösler J.; Rödelsperger, K.: Zehn Merksätze zur Interpretation von "negativen" Studien in der arbeitsmedizinischen Epidemiologie. *Arbeitsmedizin Sozialmedizin Umweltmedizin* 31 (1996), 18-19
- Wolff, R.K.; Henderson, R.F.; Snipes, M.B.; Griffith, W.C.; Mauderly, J.L.; Cuddihy, R.G.; McClellan, R.O.: Alterations in particle accumulation and clearance in lungs of rats chronically exposed to diesel exhaust. *Fundam. Appl. Toxicol.* 9:154-166 (1987)
- Yu, C.P.: Extrapolation modeling of particle deposition and retention from rats to humans. In: Mauderly, J.L.; McCunney, R.J. (eds): Particle overload in the rat lung. Implications for human risk assessment. Washington, London: Taylor and Francis 1996, 279-291

Untersuchungen zur Kanzerogenität granulärer Stäube an Ratten – Ergebnisse und Interpretationen *

Carcinogenicity studies of granular dusts in rats – results and interpretations

F. Pott, M. Roller

Addendum to the German publication: Abstract, 7 Tables and 9 Figures

Abstract

The primary aims of the study were to detect differences of the carcinogenicity of granular dusts on the rat lung after intratracheal instillation and to find out the optimal metric for the carcinogenic potency. Nineteen dusts were chosen which differed significantly in at least one of the following properties: chemical composition, density, specific surface area (BET results), and mean particle size. Quartz and amorphous SiO₂ were included in the test because of their well-known specific toxicity for comparison. In addition, silanized titanium dioxide not tested before was applied; it was found to be acutely very toxic.

16 of the 19 dusts constituted a group for which no specific toxicity was detected, and which seemed not have been essential for their carcinogenicity. Therefore, these dusts were defined as *granular bio-durable particles without known significant specific toxicity (GBP; in German: GBS)* in the frame of this carcinogenicity experiment. 12 of the 16 GBP were classified as *fine* dusts (GBP-F) with mean diameters between 0.09 µm and 4 µm; 4 were *ultrafine* (GBP-UF) with mean diameters between 0.010 and 0.030 µm.

Unfortunately, only the macroscopically diagnosed lung tumour incidences could be used for the logistic regression analysis, which included applied masses, volumes, dust surface areas, and particle sizes of the GBP.

The most important results and conclusions: All 16 GBP produced lung tumours, mostly dose-dependently and many more than expected. The GBP volume in connection with particle size turned out to be the most adequate dose metric for the carcinogenicity of GBP. The 4 GBP-UF were 2½ times more effective than the 4 “small” GBP-F (mean diameter 0.09 – 0.2 µm), and 8 times more effective than the 8 “large” GBP-F (mean diameter 1.8 – 4.0 µm). The differing distribution pattern in epithelial and other cells, alveoli, interstitium, and lymph nodes is supposed to be an important factor for the differing potencies.

A threshold for the carcinogenicity of GBP-F in rats at the German general occupational dust limit of 3 mg/m³ for respirable dust is very unlikely when all inhalation and instillation carcinogenicity studies are taken into account. An excess risk of 1 – 3 % from exposure to 3 mg GBP-F /m³ (mean of all diameters) was calculated. There are many arguments against the hypothesis that the mechanism of carcinogenesis of GBP in rats is not effective in humans. Epidemiological studies indicate that a similar excess risk is possible in humans as after equivalent exposure in rats. However, the detection limit for an unequivocally increased excess risk is very high (> 5 - 10 %) as well in humans as in rat studies. The present state of knowledge fulfils the criteria for the classification of GBP in the EU category 2 of carcinogenic substances.

Key words: dust, lung, carcinogenicity, rat

* Basis of this short version for publication on the Internet is the report *Beschreibung und Auswertung einer Kanzerogenitätsstudie mit 19 Stäuben an Ratten (Description and evaluation of a carcinogenicity study with 19 dusts in rats)*. The Federal Institute for Occupational Safety and Health (FIOSH) has supported it as Project F1843. The original report contains comprehensive descriptions of materials and methods, analysis of body weight development, survival analysis, and extensive details of results, including basic data sheets of the experimental groups with macroscopical tumour diagnosis of each rat in the total study and histopathological diagnoses for part 1 of the study (coal dust study). Histopathology of part 2 has either not been performed or was not available to us.

Table 1 - Dusts and some physical data. – On the left: data of five *ideal dusts* (all particles with uniform size, spherical, smooth, density 1 g/mL), particle diameter descending from 2 to 0.02 µm, particle numbers and specific surface areas are calculated from these data. – On the right: the data of the 19 tested dusts are arranged in the order of their mean diameter as it was given (not all were detected with the same method)

<i>Ideal dusts</i> ^a			The 19 tested dusts					
Particle diameter [µm]	Specific particle number [10 ⁹ /mg]	Specific surface area [m ² /g]	Dust specification	Specific part. no. [10 ⁹ /mg]	Mean diameter [µm]	Specific surf. area (BET) [m ² /g]	Density [g/mL]	Specific volume [µL/mg]
<i>Fine dusts</i>								
2	0.24	3.0	^b ZrO ₂		4.0	4.4	5.85	0.17
			^b Lean coal	0.27	4.0	4.1	1.4	0.71
			^b Toner		3.5	3.6	1.2	0.83
			^b Rich coal	0.54	3.4	6.4	1.8	0.56
			^b Steam coal	1.5	2.4	10.9	2.2	0.45
			^b Rock	1.2	2.3	17.6	2.4	0.42
			^b Kaolin		2.0	19	2.5	0.40
			^b Lower rich coal	1.7	1.8	9.9	1.4	0.71
1	1.9	6.0	^c Quartz	3.6	1.1	8.8	2.6	0.38
0.25	120	24	^b TiO ₂ fine		0.2	10	3.9	0.26
			^b Lung dust		0.2	12	2.0	0.50
			^b Diesel soot, truck		0.2	13	1.85 ^f	0.54 ^f
0.1	1,900	60	^b Carbon black 101		0.095	18	1.85	0.54
<i>Ultrafine dusts</i>								
0.02	240,000	300	^b TiO ₂ hydrophilic		0.025	52	3.8	0.26
			^d TiO ₂ hydrophobic		0.02	33	3.8	0.26
			^b Aluminium silicate		0.015	63	2.1	0.48
			^b Carbon black Pr. 90		0.014	337	1.85	0.54
		^e	Amorphous SiO ₂		0.014	210	2.2	0.45
		^b	Aluminium oxide		0.013	124	2.9	0.34

^a For uniform spheres in an *ideal dust*, the relationship between diameter, specific surface area and number of spheres per mass unit can be generally described as follows: When the diameter becomes smaller by a factor of 2, the surface area increases by a factor of 2, and the number increases by a factor of 2³.

^b Valued as *GBP*: granular bio-durable particles without known significant specific toxicity (in German *GBS*: granuläre bio-beständige Stäube ohne bekannte wesentliche spezifische Toxizität)

^c Specifically toxic by an unknown non-soluble toxic surface property. Independent of this specific toxicity,

quartz dust additionally has the general toxicity of GBP, which remains and has to be considered when the specific toxic surface property is inactivated, e.g. by coating with polyvinyl-pyridine-N-oxide (PVNO).

^d Specifically toxic by dissolution of a coating organic silicon compound which changes the surface from hydrophilic into hydrophobic (Pott *et al.*, 1998).

^e Soluble in the lung and specifically acutely toxic.

^f See Table 2, footnote ^s.

Table 2 - Experimental groups, dust doses instilled (mass and volume dose), estimated dust volume retained in the lungs for a longer period, rats at risk, survival time, lung tumour incidences, and tumour incidence per μL dust burden in the lung

Dust, material (F = fine, UF = ultrafine)	Dose instilled		Dust volume / lung ^b [μL]	Rats at risk ^c	Sur- vival 50 % ^d [wks]	Lungs with tumour(s) [%]					Tum. / lung dust ^g [%/ μL]
	number of inst. x mg	vol. ^a [μL]				macroscopy total ^e	primary ^f	ben.	mal.	total	
<i>Part 1: mining dusts (coal dust study)</i>											
Carrier fluid	20 x 0	–	–	48/47	110	6.4	2.1	0.0	0.0	0.0	–
Lean coal, F < 0.1 % SiO ₂	11 x 6	47	31	48/47	109	48.9	34.0	8.5	48.9	57.4	1.8
	20 x 6	86	57	48/48	101	43.8	39.6	2.1	62.5	64.6	1.1
Lower rich coal, F < 0.1 % SiO ₂	10 x 6	43	29	48/48	108	33.3	25.0	20.8	33.3	54.2	1.9
	20 x 6	86	57	48/44	106	70.5	61.4	4.5	72.7	77.3	1.4
Rich coal, F 1.3 % SiO ₂	10 x 6	33	22	48/48	106	45.8	43.8	10.4	45.8	56.3	2.5
	20 x 6	67	44	48/45	99	57.8	44.4	22.2	57.8	80.0	1.8
Steam coal, F 9.0 % SiO ₂	10 x 6	27	18	48/43	108	39.5	32.6	11.6	60.5	72.1	4.0
	20 x 6	55	36	48/45	95	62.2	53.3	17.8	66.7	84.4	2.3
Rock, F 16.7 % SiO ₂	10 x 6	25	17	48/47	102	27.7	19.1	6.4	27.7	34.0	2.0
	20 x 6	50	33	48/45	105	44.4	37.8	11.1	46.7	57.8	1.7
Quartz DQ12, F 99.1 % SiO ₂	5 x 1	1.9	0.8 ^h	38/35	103	60.0	51.4	17.1	48.6	65.7	> 51 ^h
	10 x 1	3.8	1.7 ^h	38/35	106	65.7	54.3	14.3	57.1	71.4	> 28 ^h
	10 x 2	7.7	3.4 ^h	38/36 ⁱ	100	67.6	64.9	22.2	55.6	77.8	> 15 ^h
<i>Part 2: non-mining dusts</i>											
Carbon black, F lamp bl. 101	5 x 6 ^j	17	11	48/45	106	44.4	35.6				3.2
	10 x 6 ^k	33	22	48/46	104	50.0	45.7				2.1
	20 x 6 ^m	66	44	48/47	108	70.2	53.2				1.2
Carbon black, UF furnace black Printex 90	5 x 1.5 ⁿ	5	3	48/46	110	56.5	45.7				14
	5 x 3 ^{p,q}	10	6	21/18	112	83.3	83.3				13
	5 x 3 ^q	8	5	27/27	107	70.4	48.1				8.9
	5 x 6	16	11	48/48	108	75.0	62.5				5.8
	10 x 6	32	22	48/47	100	72.3	57.4				2.7
Al-oxide, UF	5 x 6	10	7	48/44	111	75.0	63.6				9.2
	10 x 6	21	14	48/47	97	70.2	55.3				4.0
Al-silicate, UF	5 x 6	14	10	48/47	107	59.6	48.9				5.1
	10 x 6	29	19	48/45	108	73.3	48.9				2.6
Kaolin, UF	10 x 6	24	16	48/48	115	37.5	29.2				1.8
	20 x 6	48	32	48/47	121	59.6	51.1				1.6
No treatment (1)	–	–	–	48/46	124	0.0	0.0				–

continued on next page

Table 2 - continued

Dust, material (F = fine, UF = ultrafine)	Dose instilled		Dust volume / lung ^b [µL]	Rats at start / at risk ^c	Sur- vival 50 % ^d [weeks]	Lungs with tumour(s) [%]				Tum. / lung dust ^g [%/µL]	
	number of inst. x mg	vol. ^a [µL]				macroscopy		microscopy (primary)			
						total ^e	primary ^f	ben.	mal.	total	
Diesel soot, F	3 x 2.5	4.1	1.4 ^s	48/45	117	8.9	4.4		r		3.3
	5 x 3	8.1	2.7 ^s	48/47	115	23.4	12.8		r		4.7
	5 x 6	16.2	5.4 ^s	48/45	108	48.9	31.1		r		5.8
TiO ₂ , UF hydrophilic	5 x 3	3.9	2.6	48/42	114	47.6	35.7		r		14
	5 x 6	7.9	5.3	48/46	114	52.2	47.8		r	66 ^r	9.1
	10 x 6	16	11	48/46	104	54.3	43.5		r		4.1
TiO ₂ , UF hydrophobic	15 x 0.5	2.0	(toxic)	24/11	86	9.1	0.0		r		
	30 x 0.5	3.9		48/15	114	20.0	20.0		r		
Toner, F	10 x 6	50	33	24/24	111	41.7	41.7		r		1.3
	20 x 6	100	67	24/24	101	66.7	62.5		r		0.9
TiO ₂ , anatase, F	10 x 6	15	10	48/44	108	22.7	22.7		r	27 ^r	2.2
	20 x 6	31	21	48/44	113	36.4	36.4		r		1.8
ZrO ₂ , F	10 x 6	10	6.8	48/47	115	12.8	12.8		r		1.9
Lung dust, collier, silicosis III, F	10 x 6	30	20	40/40	117	67.5	57.5		r		2.9
	20 x 6	60	40	40/34	107	67.6	47.1		r		1.2
SiO ₂ , amorph., UF (silica fumed)	5 x 3	6.8	(soluble	40/37	113	13.5	8.1		r		
	10 x 3	14	+ toxic)	40/35	112	2.9	0.0		r		
No treatment (2)	–	–		48/46	113	6.5	0.0		r		

^a Total volume calculated from mass instilled and density. According to the *overload hypothesis* (Morrow et al., 1991), the retardation of the macrophage-mediated alveolar lung clearance of particles is rather caused by the volume of GBP than by their mass. A threshold cannot be concluded from the data. A standard for a "non-overload situation" in rats was set at a lung burden of 1 µL dust per g wet weight of control lungs deduced from experiments with Fischer rats. At this level, the half-time of lung clearance is doubled. The weight of the control rats (Fischer strain) is given as 1.5 g (Greim, 1997). According to convention but not to scientific results, a burden of up to 1.5 µL GBP/lung is not associated with an overload condition (see Fig. 6).

^b With the exception of quartz (see footnote^h), hydrophobic TiO₂, amorphous silica, and diesel soot (see footnote^s) the dust part retained in the lung at long term is consistently assumed with a mean of 2/3 of the dose instilled according to published data which are in a relatively wide range; they were summarized and discussed by Driscoll et al. (2000) and Pott and Roller (2002).

^c Number of sufficiently examined rats which survived at least 26 weeks after first instillation.

^d Period after first instillation in which 50 % of the animals died excluding rats which died immediately after anaesthesia.

^e Percentage of rats with any macroscopically diagnosed lung tumour independent of existing tumours located at other sites which lead to the conclusion that the detected lung tumour might be a metastasis.

^f Percentage of rats with lung tumour(s) which are probably not a metastasis of a tumour located at other sites; these lung tumours were classified as *macroscopically primary lung tumours*.

^g Relation of percentage of rats with primary lung tumours to the dust volume dose in the lung (see footnotes^a and ^b). For part 1 of the study, the total tumour incidences of the microscopically diagnosed rats were used, for part 2 the incidences of macroscopically diagnosed rats with primary lung tumour(s).

^h Due to the known tendency of quartz to migrate from the lung to the lymph nodes, the percentage of quartz retained in the lungs is expected to decrease more than the lung burden of GBP. In earlier

instillation experiments with DQ12, bronchial clearance and lymphotrophy reduced the SiO₂ content in the lung to about 1/3 of the instilled mass 10 months after instillation (Brockhaus and Pott, 1968/69, reported in Pott and Roller, 2002). This corresponds roughly with retention data of the inhalation experiment of Bellmann et al. (1991). Hence, an additional reduction factor of 2/3 was regarded for DQ12 (estimated retention = DQ12 instilled x 2/3 x 2/3; e.g. this means: 10 mg quartz instilled with a density of 2.6 g/mL result in 1.7 µL retained dust). However, the values given for % lung tumours per µL quartz per lung are calculated as if 2/3 of the instilled quartz dose persisted in the lung like GBP. The symbol > which precedes the figures written *in italics* indicates the existing uncertainties.

ⁱ 37 rats macroscop. examined, 1 rat thereof not histolog. examined

^j Additionally 1 x 2.5 mg diesel soot by error

^k Additionally 1 x 3 mg diesel soot by error

^m Additionally 1 x 6 mg diesel soot by error

ⁿ Additionally 1 x 3 mg TiO₂ UF h.philic by error

^p Additionally 1 x 6 mg TiO₂ UF h.philic by error

} included in the calculation of the totally instilled volume

^q These two subgroups were combined for further statistical calculations. The large difference of the tumour response may be due to an inhomogeneous suspension administered in small numbers of rats per subgroup and not caused by the additional instillation of the relatively small volume of TiO₂ (about 20 % of the dose of the first subgroup).

^r Tumour incidences from histological diagnoses of part 2 are published by Borm et al. (2000) so far only for two groups without details of the detected tumour types as in part 1 of the study.

^s The density of the elemental carbon core was estimated at 1.85 g/mL in analogy to carbon black (Table 1). According to UBA (1999) it was assumed that 50 % of the mass of the native diesel soot of lorries are organic substances and that they will be dissolved in the lung. Hence, 7.5 mg total particle mass of diesel soot have a volume of 4.05 µL. After instillation, 2/3 of this volume (2.7 µL) would be retained in the lung for a longer period but is considered to be reduced by dissolution of the organic part at 50 % (1.35 µL). This volume corresponds with the dust volume standard of 1 µL/g lung explained in footnote^a.

Table 3 - Rats with lung tumour(s) of part 1 (coal dust study). Number of rats with one or more than one lung tumour, which survived less than 2 years or longer with one or more primary lung tumour histopathologically diagnosed by H. Ernst, S. Rittinghausen and U. Mohr (Pott et al., 2000).

Dust	Total-dose i.tr. [mg]	Rats at risk ^a	Rats with macr. lung tum. ^b	Rats with histolog. lung tumour(s) ^c						Rats with mal. tum.			Rats with benign and / or malignant tumour(s)		Survival of 1st rat with lung tumour(s) [weeks]
				benign ^d			malignant ^e			>1 tum. (same type) ^f	> 1 type	> 2 types	primary lung tumours	Meta-stases	
				2 ys	2½ years	()	2 ys	2½ years	()						
Carrier fluid	0	47	3 / 1	0	0	(0)	0	0	(0)	0	0	0	0 = 0.0 %	8	–
Lean coal	66	47	23 / 16	0	13	(4)	2	23	(14)	9	9	0	27 = 57.4 %	8	97
< 0.1 % SiO ₂	120	48	21 / 19	6	19	(1)	9	30	(12)	16	10	3	31 = 64.6 %	10	57
Lower rich coal	60	48	16 / 12	5	18	(10)	2	16	(8)	9	2	0	26 = 54.2 %	5	55
< 0.1 % SiO ₂	120	44	31 / 27	4	17	(2)	13	32	(17)	25	12	2	34 = 77.3 %	6	56
Rich coal, mine	60	48	22 / 21	4	14	(5)	5	22	(13)	13	7	0	27 = 56.3 %	7	62
1.3 % SiO ₂	120	45	26 / 20	11	24	(10)	10	26	(12)	14	11	2	36 = 80.0 %	11	55
Steam coal, mine	60	43	17 / 14	5	18	(5)	6	26	(13)	16	8	1	31 = 72.1 %	6	68
9.0 % SiO ₂	120	45	28 / 24	8	20	(8)	11	30	(18)	15	6	1	38 = 84.4 %	4	60
Rock, mine	60	47	13 / 9	1	7	(3)	2	13	(9)	6	3	1	16 = 34.0 %	8	84
16.7 % SiO ₂	120	45	20 / 17	3	12	(5)	7	21	(14)	9	3	0	26 = 57.8 %	7	67
Quartz DQ 12	5	35	21 / 18	6	17	(6)	4	17	(6)	8	8	2	23 = 65.7 %	8	68
99.1 % SiO ₂	10	35	23 / 19	5	19	(5)	6	20	(6)	13	6	1	25 = 71.4 %	4	51
	20	36 ^g	25 / 24	16	25	(8)	11	20	(3)	6	5	0	28 = 77.8 %	2	66
						↓			↓				↓		
			<i>Total numbers^h:</i>	<i>only benign</i>	<i>a + malignant</i>	<i>b</i>			<i>result in</i>				<i>c</i>		
Total:		613	289/241	74	223	(72)	88	296	(145)	159	90	13	368		

^a Rats at risk: Number of sufficiently examined rats which survived at least 26 weeks after first instillation. The total 613 rats at risk are 95.5 % of 642 rats at start (see Table 2).

^b The number before the diagonal line is the number of rats with one or more lung tumours including lung tumours, which are suspected to be a metastasis of a primary tumour located outside the lung. The number behind the diagonal line regards the number of rats with probable primary lung tumour(s).

^c Tumour types diagnosed histopathologically: *benign*: adenoma, epithelioma; *malignant*: adenocarcinoma, squamous cell carcinoma (see Table 7). Lungs with metastases of tumours primarily located at other sites are not included.

^d Number of lungs with one or more than one benign tumours after 2 years (74 rats) and at the end of the study after 2½ years (223 rats). In 72 of 223 lungs only benign lung tumour(s) were diagnosed (numbers per group in parentheses); one or more malignant tumours were also found in the other 151 cases.

^e Number of lungs with one or more malignant tumours after 2 years (88 rats) and 2½ years (296 rats). The numbers in parentheses regard lungs without unequivocally benign lung tumours (145 rats); a benign tumour may have been the precursor of a malignant tumour but such cases cannot be detected because of the infiltrative and destructive growth of malignant tumours.

^f More than one malignant tumour of the same type was diagnosed in a total of 159 lungs, in 90 rats more than one type, and in 13 more than 2 types.

^g 37 rats were macroscopically examined, one animal was not histologically examined.

^h The number of lungs per group above *a* (benign tumours only) added with the number of lungs above *b* (malignant tumours) result in *c* which is the total number of rats with one or more lung tumours. These tumour incidences per group were the basis for further calculations.

Table 4 - Acute mortality after intratracheal instillation (i.tr.) and intraperitoneal injection (i.p.) of female Wistar rats (age 8 weeks at the first treatment) with hydrophobic ultrafine TiO₂ P 805 and hydrophilic TiO₂ P 25. Second instillation after 8 days of survivors of group 1, 2, 5, 6, and 8. Second i.p. injection of group 4 and 7 the following day after first injection

(This experiment was carried out in July 1996. It should verify the unexpected acute toxicity of this dust sample, which was observed in the 19-dust carcinogenicity study. The data of this Table are partly published in Pott et al., 1998.)

Group no	Substance	Dose ^a (1 st instill., 1 st + 2 nd i.p. inj. ^b)	Number of rats		Dose ^a of 2 nd instill. 8 days after 1 st instillation	Dead rats 24 h after 2 nd instill. ; after further 5 days
			dead in 24 h after treatment / treated	survivors 8 d after 1st treatm.		
1	TiO ₂ P 805	0.5 mg i.tr.	3 / 12 = 25 %	9	0.5 mg i.tr.	4 ; 0
2	TiO ₂ P 805	1 mg i.tr.	7 / 12 = 58 %	5	1 mg i.tr.	4 ; 0
3	TiO ₂ P 805	2 mg i.tr.	11 / 12 = 92 %	1	–	–
4	TiO ₂ P 805	125 mg i.p. +125 mg i.p. ^b	1 / 12 = 8 % 0 / 11 = 0 %	11	–	–
5	TiO ₂ P 25	10 mg i.tr.	0 / 12	12	10 mg i.tr.	0 ; 0
6	TiO ₂ P 25	20 mg i.tr.	0 / 12 ^c	11 ^c	20 mg i.tr.	0 ; 0
7	TiO ₂ P 25	125 mg i.p. +125 mg i.p. ^b	0 / 12 0 / 12	12	–	–
8	Control	0.4 mL i.tr.	0 / 12	12	0.4 mL i.tr.	0 ; 0

^a Carrier fluid: 0.9 % NaCl solution, phosphate buffered, with 1 % Tween 80; 0.4 mL i.tr. (as in control group); 5 mL i.p. (no i.p. control with carrier fluid).

^b 2nd i.p. injection of 125 mg 1 day after 1st injection.

^c 1 rat died 3 days after the 1st i.tr. instillation.

Table 5 - Inhalation carcinogenicity studies with GBP-F and GBP-UF in different rat strains

Dust	Dia- meter [μm] ^a	Specif. surface area [m^2/g]	Density [g/mL]	Exposure		GBP dose per lung				Rats with lung tumor(s) [abs./exam.,%]	Tum. / GBP in lung [%/ μL] ^f	References		
				[mg/m^3]	[h/wk, 24 mth]	after ca 1 yr exposure ^b			after ~2 yr [mg] ^e					
						[mg]	[μL] ^c	[$\mu\text{L}/\text{g}$] ^d						
Coal			1.4 ^g	200	5 x 5	43	31	18	96	4 / 36	11	0.35	Martin <i>et al.</i> , 1977	
<i>control</i>	–	–	–	0	–	♀ <i>Spr.-Dawley rat</i>		–	–	0 / 6	0 ^h	–		
TiO ₂ rutile	MMAD 1.5-1.7 (equival. to ~0.8 geom. diam.)		4.26 ⁱ	10	5 x 6	♀	8.7	2.0	0.87	32	1 / 75	1.3	Lee <i>et al.</i> , 1985, 1986	
						♂	10.1	2.4	0.73	21	2 / 71	2.8		
				50	5 x 6	♀	60	14	6.0	130	0 / 74	0		0
						♂	76	18	5.5	118	1 / 75	1.3		
				250	5 x 6	♀	382	90	38	546	26 / 74	35		0.39
						♂	362	85	26	785	13 / 77	17		0.17
<i>control</i>	–	–	–	0	–	♀ <i>Spr.-Dawley rat</i>		–	–	0 / 77	0	–		
						♂ <i>Spr.-Dawley rat</i>		–	–	2 / 79	2.5	–		
Diesel engine exhaust, ~12 % org. substances	MMAD ~ 0.25, 0.01-10		1.85 ^k	0.35	5 x 7	♀♂	0.24	0.13	0.09	0.6	3 / 223	1.3	Mauderly <i>et al.</i> , 1987; Cheng <i>et al.</i> , 1984; Wolff <i>et al.</i> , 1987; Nikula, 2000	
				3.5	5 x 7	♀♂	2.18	1.18	0.79	11.5	8 / 221	3.6 ^m		2.3
				7.1	5 x 7	♀♂	7.29	3.94	2.63	20.5	29 / 227	12.8		3.0
<i>control</i>	–	–	–	0	–	♀♂ <i>F344/Crl rat</i>		–	–	2 / 230	0.9	–		
Toner (see Table 1)	MMAD ~ 4, geom. SD 1.5; mean 3.5	3.6	1.2	0.35	5 x 6	♀	0.12 ⁿ	0.1	0.1	0.19	1 / 112	0.9	–	Muhle <i>et al.</i> , 1991; Bellmann <i>et al.</i> , 1991
						♂	0.16 ⁿ	0.13	0.09	0.24			–	
				1.5	5 x 6	♀	0.69 ⁿ	0.57	0.55	1.41	0 / 114	0	0	
						♂	1.03 ⁿ	0.85	0.60	2.05			0	
				5.4	5 x 6	♀	5.32 ⁿ	4.4	4.3	13.0	5 / 114	4.4 ^p	–	
						♂	8.7 ⁿ	7.3	5.1	18.1			–	
TiO ₂ rutile	MMAD 1.1		4.3	3.9	5 x 6	♀	1.4 ⁿ	0.33	0.32	2.24	2 / 113	1.8	–	
						♂	1.8 ⁿ	0.42	0.30	3.20			–	
<i>control</i>	–	–	–	0	–	♀♂ <i>F344 rat</i>		–	–	3 / 111	2.7	–		
Talc	MMAD 2.7-3.2		2.8 ^q	6	5 x 6	♀	4.7 ^r	1.7	1.7	9.1 ^r	0 / 48	0	0	NTP, 1993
						♂	4.4 ^r	1.6	1.6	10.5 ^r	1 / 50	2		
				18	5 x 6	♀	14 ^r	5.1	5.1	29.4 ^r	13 / 50	26	4.7 ^r	
						♂	21 ^r	7.5	7.5	24.2 ^r	1 / 50	2		
<i>control</i>	–	–	–	0	–	♀ <i>F344/N rat</i>		–	–	1 / 50	2	–		
						♂ <i>F344/N rat</i>		–	–	0 / 49	0	–		

Dust	Dia- meter [μm] ^a	Specif. surface area [m^2/g]	Density [g/mL]	Exposure		GBP dose per lung				Rats with lung tumor(s) [abs./exam.,%]	Tum. / GBP in lung [%/ μL] ^f	References		
				[mg/m^3]	[h/wk, 24 mth]	after ca 1 yr exposure ^b			after ~2 yr [mg] ^e					
						[mg]	[μL] ^c	[μL]/ g ^d						
Carbon black Printex 90	0.014 MMAD 1.1	230	1.85	6	10 mth ^s	15.4	8.3	5.5		12 / 72	17	2.2	Heinrich <i>et al.</i> , 1994	
					20 mth ^s	15.4	8.3	5.5		7 / 72	9.7	1.0		
NO ₂ + SO ₂ + formaldehyde	–	–	–	5 + 5+3 ppm	10 mth ^s	♀ <i>Wistar rat</i>			–	–	1 / 72	1.4		–
				20 mth ^s	–				–	0 / 72	0	–		
<i>control</i>	–	–	–	0		–	–	–	–	0 / 72	0	–		
Carb. bl. Pr. 90 ^t	0.014 ^u	227	1.85	7-12 ^v	5 x 18	38	20.5	14	44	39 / 100	39	1.9	Heinrich <i>et al.</i> , 1995	
TiO ₂ P25	0.021 ^u	48	3.8	7-15 ^w	5 x 18	35	9.2	6.1	39	32 / 100	32	3.4		
Diesel engine emissions, ~40 % org. substances	MMAD 0.25, 0.015-16	Native 18, extract 96 -130	1.85 ^k	0.8	5 x 18	2.8	1.5	1.0	6.3	0 / 198	0	0		
				2.5	5 x 18	11	5.9	4.0	24	11 / 200	5.5	0.8		
				7.0	5 x 18	36	19	13	64	22 / 100	22	1.1		
<i>control</i>	–	–	–	0	–	♀ <i>Wistar rat</i>		–	–	1 / 217	0.5	–		
Carbon black, furnace black Eftex- 12	< 0.05 ^x		1.85 ^y	2.5	5 x 16	♀ 6.2	3.4	2.2	17	8 / 107	7.5	2.2	Nikula <i>et al.</i> , 1995	
				2.5	5 x 16	♂ 7.9	4.3	2.8	25	2 / 106	1.9			
				6.6	5 x 16	♀ 12	6.5	4.3	37	28 / 105	27	4.1		
				6.6	5 x 16	♂ 15	8.1	5.4	40	4 / 106	3.8			
Diesel engine emissions			1.85 ^k	2.4	5 x 16	♀ 9.8	5.3	3.5	36	8 / 105	7.6	1.4		
				2.4	5 x 16	♂ 12	6.5	4.3	45	5 / 105	4.7	–		
				6.3	5 x 16	♀ 21	11	7.6	81	29 / 106	27	2.5		
				6.3	5 x 16	♂ 28	15	10	90	9 / 106	8.5			
<i>control</i>	–	–	–	0	–	♀ <i>F344/N rat</i>		–	–	0 / 105	0	–		
				0	–	♂ <i>F344/N rat</i>		–	–	3 / 109	2.8	–		
Diesel engine emissions			1.85 ^s	3.5 ± 1.4	3 x 17									Iwai <i>et al.</i> , 2000
					3 mth	1.35	0.7	0.49		0 / 48 ^z	0	0		
					6 mth	2.3	1.2	0.83		6 / 43 ^z	14.0			
					9 mth					19 / 47 ^z	40.4			
					12 mth	4.5	2.4	1.6		10 / 44 ^z	22.7	8.6		
<i>control</i>	–	–	–	0	–	♀ <i>F344 rat</i>		–	–	1 / 48	2.1	–		

Table 5 - Footnotes

- ^a Either mass median aerodynamic diameter (MMAD, partly with range) or mean diameter of primary particles.
- ^b Probably, this dose represents the best effective dose of the existing data. Therefore, only those experiments could be included into the study which contained such a value or it could be interpolated.
- ^c Calculated from the measured retained particle mass and density.
- ^d The dust volume retained in the lung is important in connection with the limit value of 1 µL dust per g control lung of the German MAK-Kommission (Greim, 1997). In most experiments, the lung wet weight of the control group is not given but the assumption of 1.5 g was used according to Greim (1997) with the following exceptions: coal 1.68 g (Martin *et al.*), TiO₂ Sprague-Dawley rats 2.35 g, male 3.25 (Lee *et al.*), talc experiment (see footnote^f); for the study with toner and TiO₂, the arithmetic means of the given lung wet weights after 9 and 15 months were calculated.
- ^e Additional information, but inhalation studies with asbestos dusts with one and two years of exposure did not show participation of the second year of exposure for the tumour response.
- ^f The tumour response in % per µL GBS retained in the lung can be used as a measure for the carcinogenic potency of a dust in the exposed group. The quotient

may help to compare the carcinogenic potencies of different groups if the background tumour incidence is far below 1 % like in female Wistar rats. For its calculation, animals with tumours of the respective control group were subtracted if the percentage was small in relation to the tumour rate of the exposed group.

- ^g Concluded by analogy with the coal dusts described in Table 1.
- ^h Only 6 lungs were examined histologically, therefore no statistically significantly higher tumour response in the exposed group. Among 485 control rats, no lung tumour observed macroscopically.
- ⁱ According to Weast *et al.* (1989).
- ^k Assumption of the value for the calculation in analogy to carbon black although the influence of the organic part of diesel particles on the density is not clear.
- ^m Significant higher than control ($p < 0.05$); approximately equal numbers of males and females in each group.
- ⁿ Mean value of the measurements after 9 and 15 months.
- ^p $p \sim 0.05$ versus 6 rats with tumour of 450 (1.33 %) not or lowly exposed (see Fig. 6).
- ^q According to Ramdohr and Strunz (1967).
- ^r The values are already published as doses per g control lung.

^s Exposure time 5 days per week, 18 h per day.

^t 0.04 % of the particle mass could be extracted as organic substances (diesel 40 % with the same method). Mean values per mg Printex 90: 0.6 pg benzo[a]pyrene (diesel soot 3.9 ng), 1-nitropyrene <0.5 ng (diesel soot 19.1 ng).

^u MMAD 0.64 µm for carbon black and 0.8 µm for TiO₂ after removing the large agglomerates of primary particles using a cyclone.

^v Mean concentrations: 7.4 mg/m³ 4 months, 12.2 mg/m³ 20 months.

^w Mean concentrations: 7.2 mg/m³ 4 months, 14.8 mg/m³ 4 months, 7.2 mg/m³ 16 months.

^x Particle size not given; value concluded by analogy with furnace blacks produced by Degussa between 0.014 and 0.56 µm.

^y Density not given; densities of carbon blacks produced by Degussa 1.8 – 1.9 g/mL.

^z 182 of 192 rats exposed in four groups survived longer than 18 months, 35 of them (19 %) developed at least 1 lung tumour. The given numbers of examined animals per group refer to rats which survived at least 18 months.

Table 6 - Earlier instillation carcinogenicity studies with GBP-F and GBP-UF in female rats, mostly Wistar strain

Dust	Mean diam. [μm] ^a	Specific surf. area (BET) [m^2/g]	Density [g/mL]	Dose i.tr.		Lung burden of GBP volume		Rats with lung tumour(s) (abs. /exam., %) (microsc. diagn.)	Tum./ total lung burden of GBP ^e [%/ μL]	References
				weekly instill. x mg	volume [μL] ^b	total ^c [μL]	[$\mu\text{L}/\text{g}$ lung] ^d			
Coal, activated			1.4 ^f	10 x 1	7.1	4.8	3.2	11 / 23 ¹ 48	10	Kawabata <i>et al.</i> , 1986
Diesel soot			1.85 ^g	10 x 1	5.4	3.6 ^h	2.4 ^h	31 / 42 ¹ 74	21 ^h	
Carrier fluid			–	–	–	♀ F344		1 / 23 ¹ 4.3	–	
No treatment			–	–	–			0 / 50 ¹ 0	–	
Magnetite			5.18 ^k	15 x 15	43	29	19	25 / 34 69	2.4	Pott <i>et al.</i> , 1987
Saline	–	–	–	20 x 0.3 mL	–	–	–	0 / 40 0	0	
Haematite		2.5	5.24 ^k	15 x 10	29	19	13	18 / 34 53	2.8	Pott <i>et al.</i> , 1994; Pott and Roller, 1994
Magnetite		7.0	5.18 ^k	5 x 10	9.7	6.4	4.3	9 / 36 25	3.9	
				15 x 10	29	19	13	25 / 37 68	3.6	
Coal, activated		860	1.4 ^m	10 x 3	21	14	9.5	10 / 37 27	1.9	
				20 x 3	43	29	19	14 / 39 36	1.2	
TiO ₂ , anatase	0.25	9.1	3.84 ^k	15 x 3	12	7.8	5.2	2 / 39 5.1	0.65	
TiO ₂ , rutile		5.2	4.26 ^k	20 x 3	14	9.4	6.3	1 / 39 2.6	0.28	
SiC		6.1	3.22 ^k	20 x 3	19	12	8.3	4 / 36 11	0.92	
Diesel soot		34 ⁿ	1.85 ^g	15 x 3	24	16 ^h	11 ^h	26 / 40 65	4.1 ^h	
Diesel soot, D.-Benz	0.2		1.85 ^g	10 x 3	16	11 ^h	7.0 ^h	35 / 58 60	5.5 ^h	
				20 x 3	32	21 ^h	14 ^h	25 / 38 66	3.1 ^h	
Carb. bl. Pr. 90	0.014	270	1.85	15 x 3	24	16	11	24 / 37 65	4.1	
Saline	–	–	–	15 x 0.4 mL	–	–	–	0 / 39 0	0	
Saline	–	–	–	20 x 0.4 mL	–	–	–	0 / 40 0	0	
Diesel soot, orig.		12	1.85 ^g	total 15 mg ^p	8.1	5.4 ^h	3.6 ^h	8 / 48 17	3.1 ^h	Dasenbrock <i>et al.</i> , 1996
Diesel soot, extracted ^q		138	1.85 ^g	total 15 mg ^p	8.1	5.4	3.6	2 / 48 4.2	0.78	
				total 30 mg ^p	16.2	11	7.2	10 / 48 21	1.9	
Carbon bl. 101, extracted ^q	0.095	22	1.85	total 15 mg ^p	8.1	5.4	3.6	4 / 48 8.3	1.5	
Carb. bl. Pr. 90, extracted ^q	0.014	271	1.85	total 15 mg ^p	8.1	5.4	3.6	11 / 48 23	4.3	
Saline with 0.25 % Tween 80	–	–	–	3 x 0.2 mL + 13 x 0.3 mL	–	–	–	0 / 47 0	0	

Table 6 - Footnotes

- ^a Data of Table 2.
- ^b Calculated from particle mass and density.
- ^c The dust part retained in the lung at long term is consistently assumed with a mean of 2/3 of the dose instilled.
- ^d Calculated under the precondition that the lung wet weight of the control rats amounts to 1.5 g (Greim, 1997). German MAK standard for dust volume burden per g lung = 1 µL.
- ^e Measure of the carcinogenic potency of a dust in the respective group.
- ^f No special data available; density of coal used.
- ^g Value used in analogy with the value in Table 2 and with carbon black.
- ^h The calculation did not consider that only the carbonaceous core is partly bio-durable. Thus, the true long-term retained particle mass is expected to be slightly lower and the effect per µL particles could be about 100 % higher in the study of Dasenbrock et al. (1996) if the 47 % extracted mass has been totally dissolved.
- ⁱ Number of rats which survived at least 18 months.
- ^k According to Weast et al. (1989).
- ^m Concluded by analogy with the coal dusts in Table 1.
- ⁿ Same batch as described in Table 2; however, the BET surface area measured in 1987 was significantly higher than the result of 2001.
- ^p 16 - 17 weekly instillations.
- ^q Extracted three times with boiling toluene for 30 min. Extractable content of the diesel soot about 47 %, of carbon blacks 101 and Printex 90 < 0.1 %.

Table 7 - Frequencies of histological diagnoses of primary lung tumours in humans and rats.

Origin of lung tissue	n	Adenoma	Adeno-carcin.	Epithe-lioma	Sqam. cell carcin.	Small cell carcin.	Large cell carcin.	Other carcin.
Biopsy	635 ^a		23 %		41 %	30 %	1 %	5 %
Operat.	163 ^a		40 %		45 %	10 %	5 %	< 1 %
Autopsy	107 ^a		18 %		31 %	36 %	7 %	8 %
Women	^b		36 %		25 %	23 %	9 %	16 %
Men	^b		15 %		46 %	25 %	13 %	14 %
Rats	368 ^c	12 %	32 %	27 % ^d	27 %			1.7 %

^a 1989 data from the Bergmannsheil clinic, Bochum, Germany (Müller and Reichel; 1990).

^b Cancer register of the German Democratic Republic 1978 – 1982 (Mehnert et al.; 1992). About 6870 new morbidity cases, of these about 70 % histologically confirmed, about 10 % women.

^c Part 1 of the 19-dust study (Table 2 and 3).

^d These benign epithelial tumours were subdivided into three types: non-keratinizing 3.4 %, cystic keratinizing 15 %, keratinizing 8 % according to the classification of Boorman et al. (1996).

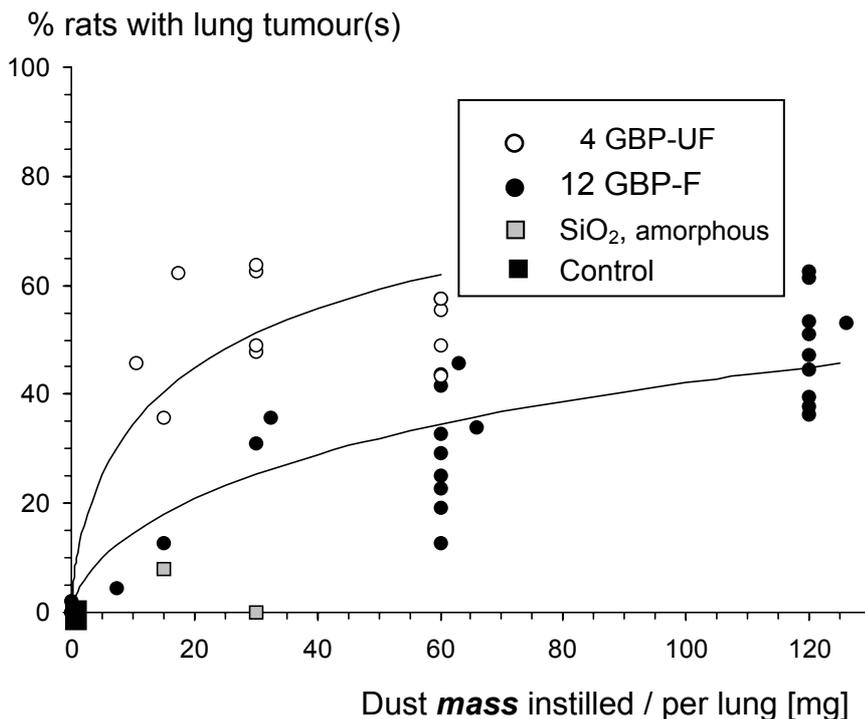


Fig. 1 - Lung tumour incidences (macroscopic primary tumours) of 4 GBP-UF and 12 GBP-F with the dose metric *particle mass* (see Table 2). The two curves show the dose response calculated with the logit model (logistic regression) for the two particle size classes with means $< 0.03 \mu\text{m}$ (UF particles) and $> 0.09 \mu\text{m}$ (F particles). Moreover, the data points of not bio-durable amorphous SiO₂ are given.

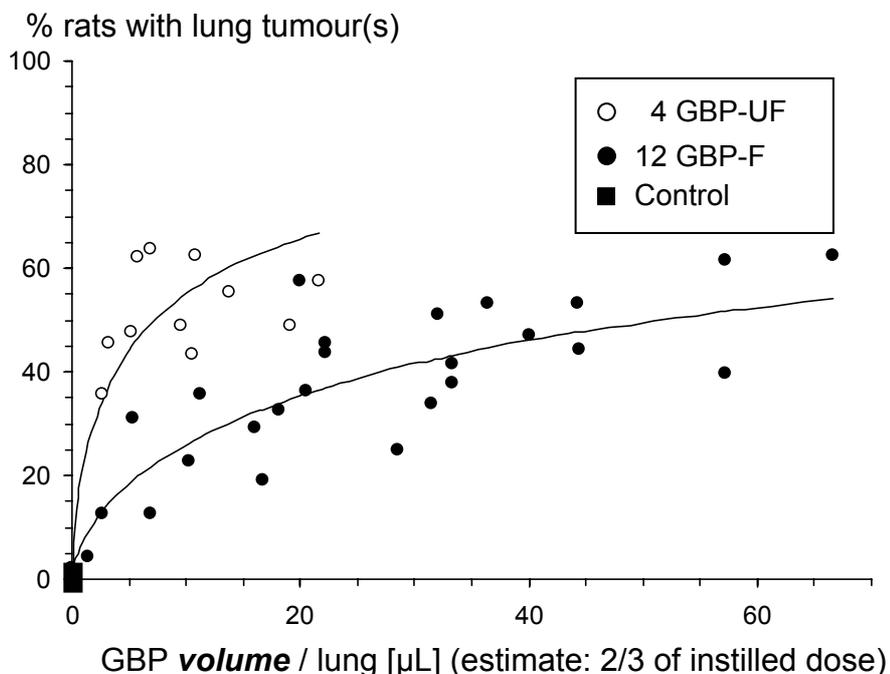


Fig. 2 - Lung tumour incidences (macroscopic primary tumours) of 4 GBP-UF and 12 GBP-F with the dose metric *particle volume* per lung (see Table 2). The two curves show the dose response relationships calculated with the logit model (logistic regression) for two particle size classes with means $< 0.03 \mu\text{m}$ (UF particles) and $> 0.09 \mu\text{m}$ (F particles).

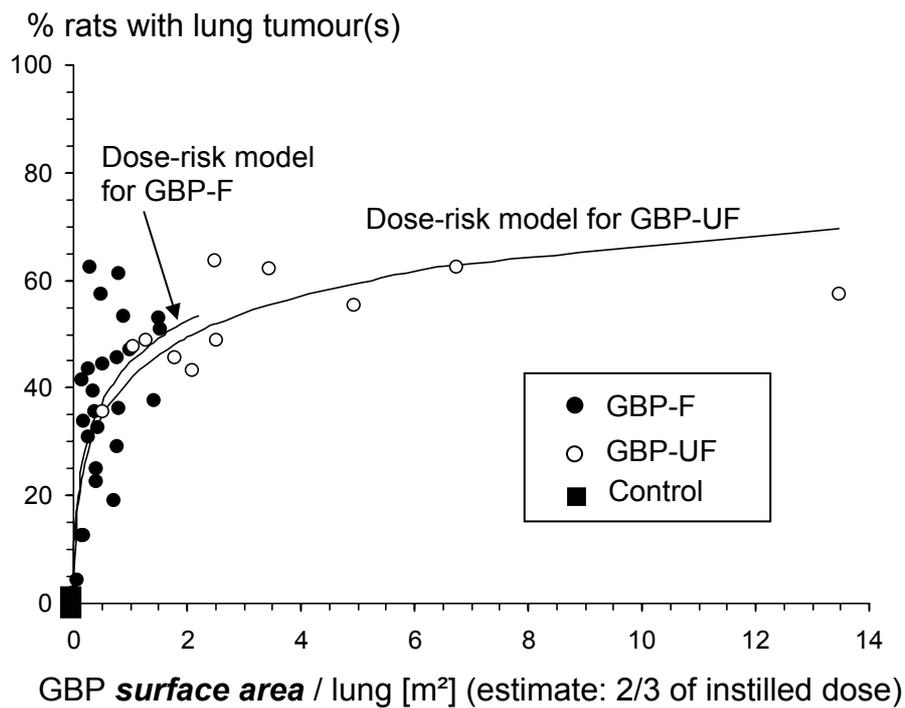


Fig. 3 - Lung tumour incidences (macroscopic primary tumours) of 4 GBP-UF and 12 GBP-F with the dose metric *particle surface area*. The data of the mean surface areas per lung were calculated from measurements with the BET method listed in Table 1, the instilled mass doses described in Table 2, and the estimate that 2/3 of the instilled dose persist in the lung for the period which is relevant for initiation of the process of carcinogenesis from GBP. The two curves show the dose response relationships calculated with the logit model (logistic regression) for two particle size classes with means 0.01 - 0.03 μm (UF dusts) and 0.09 - 4.0 μm (F dusts).

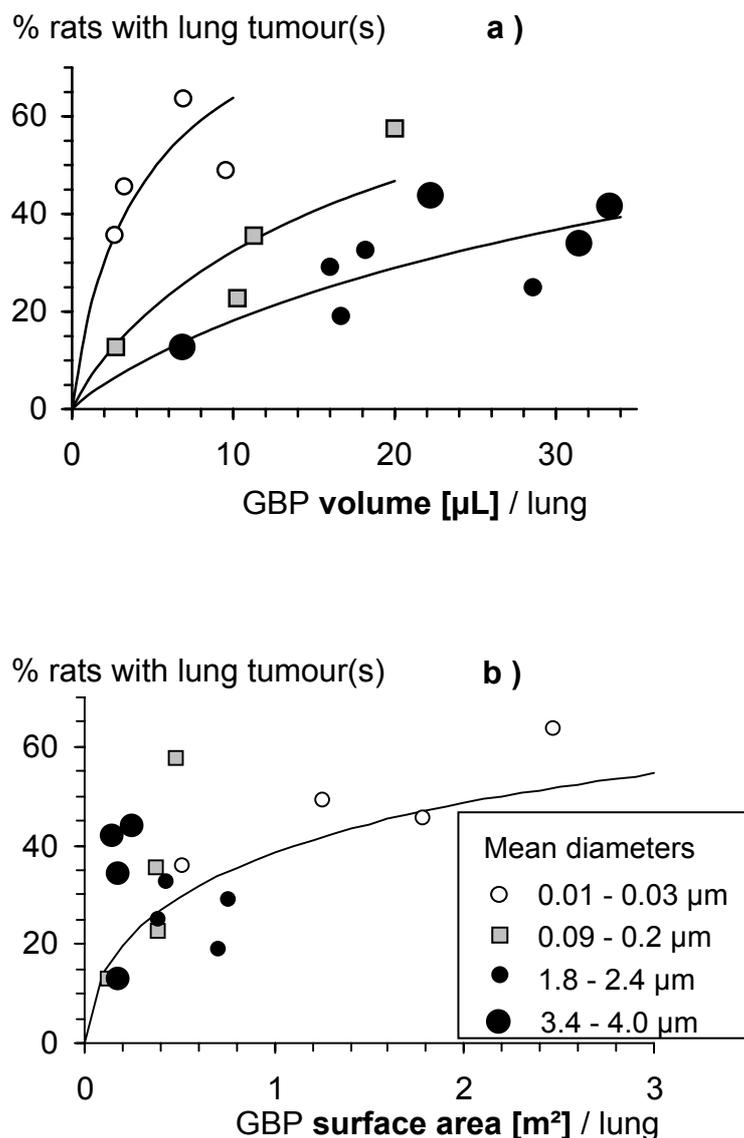


Fig. 4 - Results of exploratory logistic regression analyses for the 16 GBP: To avoid artificial bias from underreporting of tumours by macroscopical findings in the higher dose groups only the lowest data points per dust were used - with the exception of diesel soot, where the middle dose group was included (due to the relatively low dust volume of the diesel doses and the not significantly increased tumour frequency in the lowest diesel dose group). Diagrams a) and b) show the dose-response relationships for the dose metrics *retained dust volume per lung* and *retained dust surface area per lung*, respectively. The comparison of a) with b) points to a reasonable difference between GBP-UF and GBP-F only for the volume dose in a) but not for the surface dose in b). The thickest particles have the highest carcinogenic potency per m^3 surface area.

According to Fig. 4 a), the size spectrum of the tested GBP (see Table 1) can be divided into three classes: the GBP-UF (4 samples, mean diameters between 0.01 and 0.03 μm), the “small” GBP-F (4 samples, mean diameters between 0.09 and 0.2 μm), and the “big” GBP-F (8 samples, mean diameters between 1.8 and 4.0 μm). The relationship between their mean sizes is roughly 1 to 10 to 100. The carcinogenic potencies of their volumes are statistically significantly different; the relationship of the odds ratios is about 8 to 2.5 to 1.

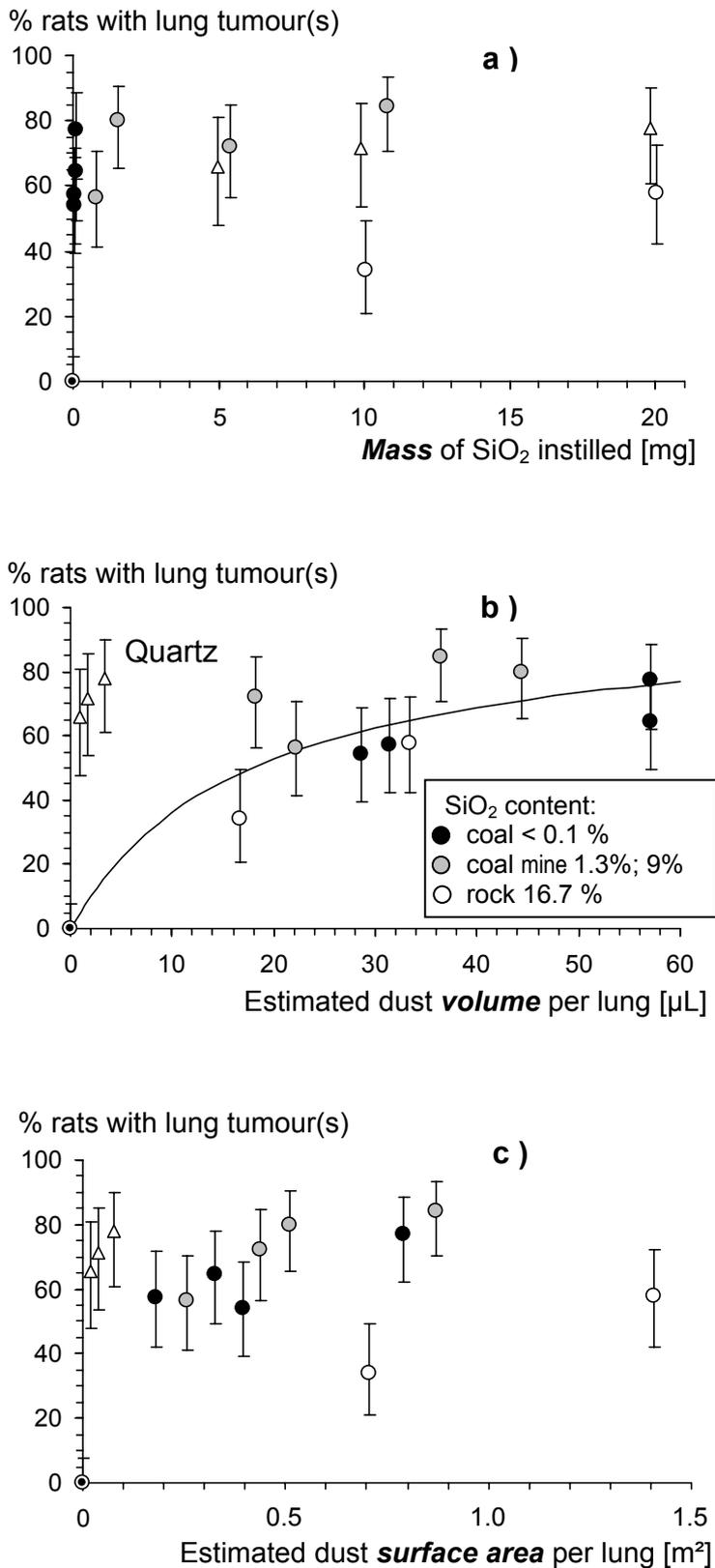


Fig. 5 - Dose-response relationships of part 1 (coal dust study, histological tumour diagnoses) with three dose metrics: **a)** *mass* of silica instilled, **b)** estimated retained *dust volume* in the lung (curve: logistic regression model without quartz), **c)** estimated *surface area* of retained dust.

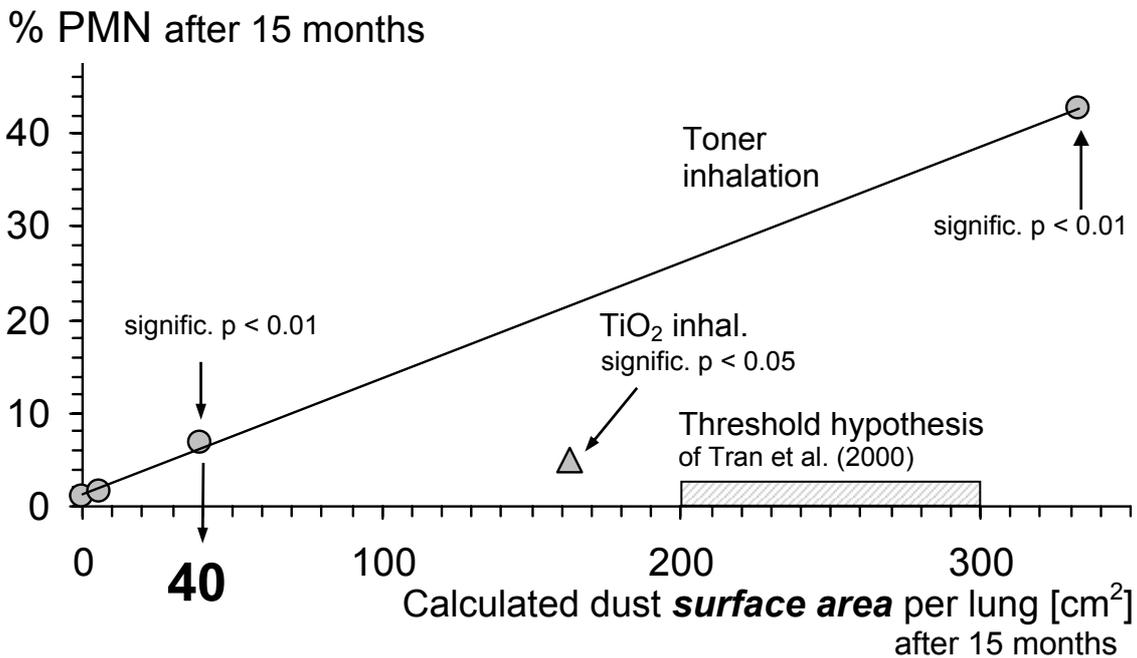
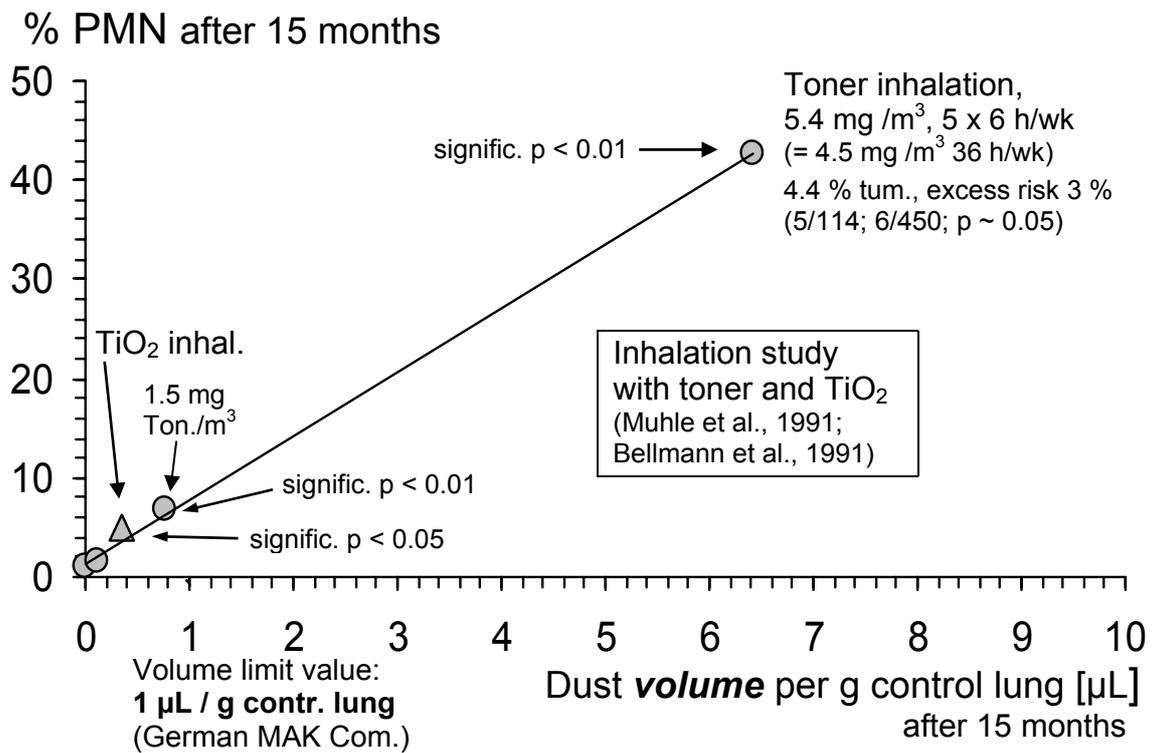
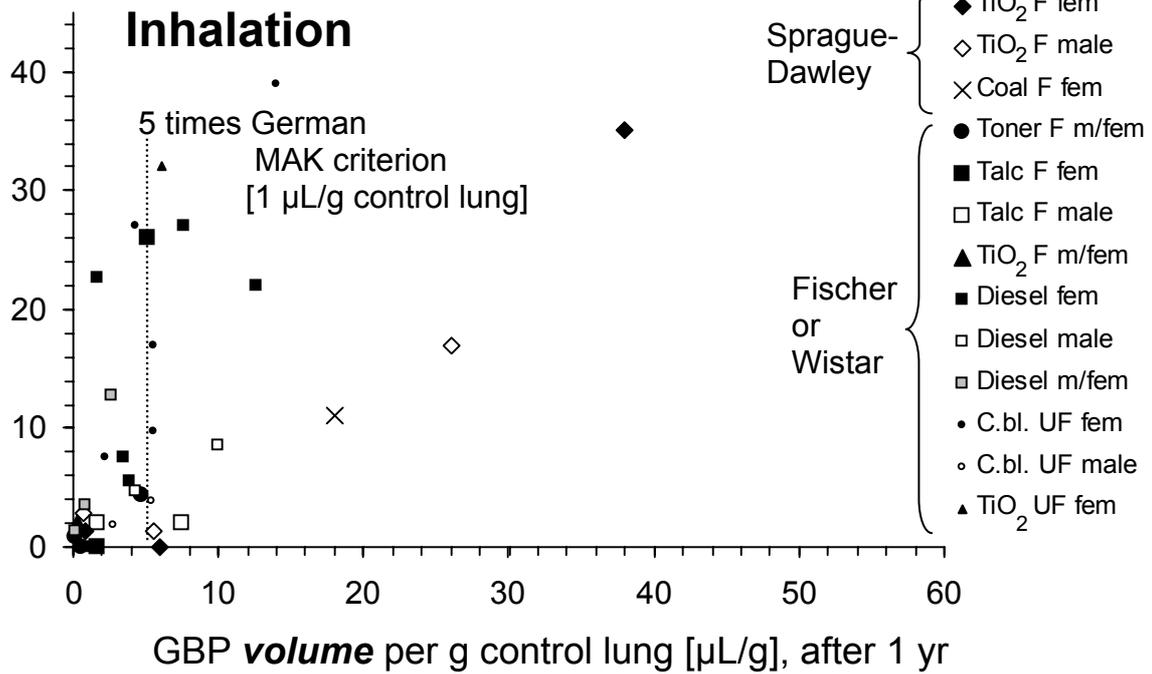


Fig. 6 - Dose-response relationships for neutrophilic granulocytes (PMN %) in bronchoalveolar lavage fluid in the 2-year inhalation study with toner and TiO₂ (fine) of Muhle et al. (1991) and Bellmann et al. (1991). The upper graph shows a virtually linear relationship with dust volume as a dose measure. The dust volumes and surface areas per lung have been calculated using the published retained dust masses after 15 months and the following data: density toner 1.2 g/mL , TiO₂ 4.3 g/mL specific surface area toner $3.6 \text{ m}^2/\text{g}$, TiO₂ $9 \text{ m}^2/\text{g}$. The tumour response in the highest toner group is compared with the non-exposed and lowly exposed groups (see Table 5). Significant effects have been observed at doses clearly lower than the volume limit value of the German MAK commission and the hypothesized threshold between 200 and 300 cm^2 of Tran et al. (2000). Furthermore, the data points of toner and of TiO₂ fit well together only with the volume measure.

% rats with lung tumour (different strains)



% female Wistar rats with lung tumour

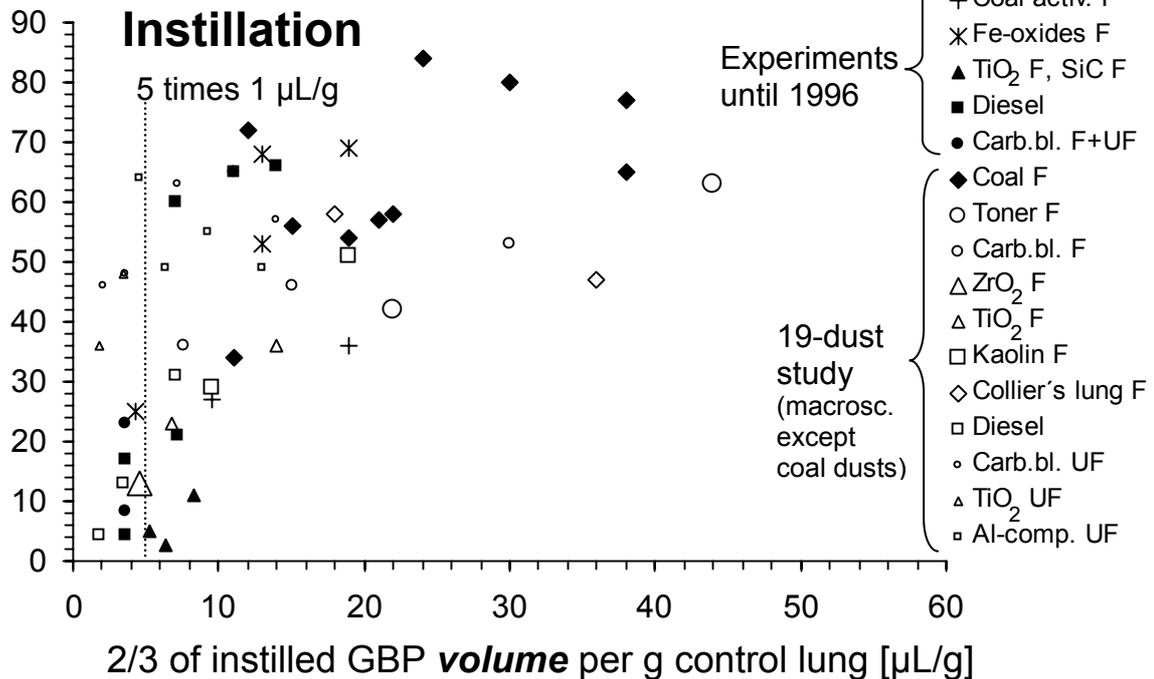


Fig. 7 - Dose response relationships of GBP (-F and -UF) with the dose criterion *dust volume* per g control lung from inhalation and instillation studies in rats. The experiments are referred in Tables 2, 5 and 6.

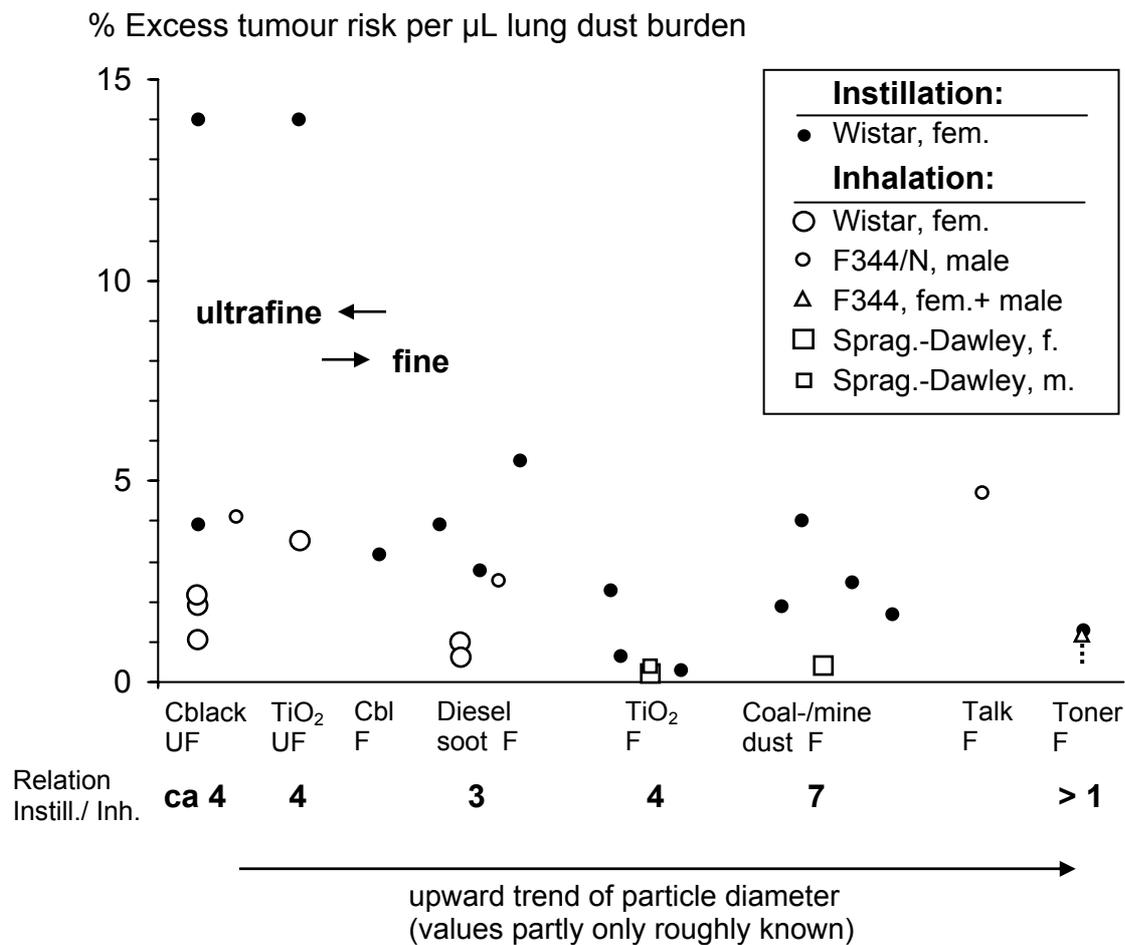


Fig. 8 - Relation between the carcinogenic potencies of GBP in instillation and inhalation studies with rats calculated from the mean values of the excess tumour risks. The graph shows the excess tumour risk per μL dust retained in the lungs about 1 year after start of inhalation exposure of selected groups or 2/3 of the instilled GBP volume (instillation studies of Tables 2 and 6, inhalation studies of Table 5; semi quantitative presentation). The selection preferred rat groups with tumour incidences close by 25 % tumour incidence as far as possible.

Relative carcinogenic potency of diesel engine emissions

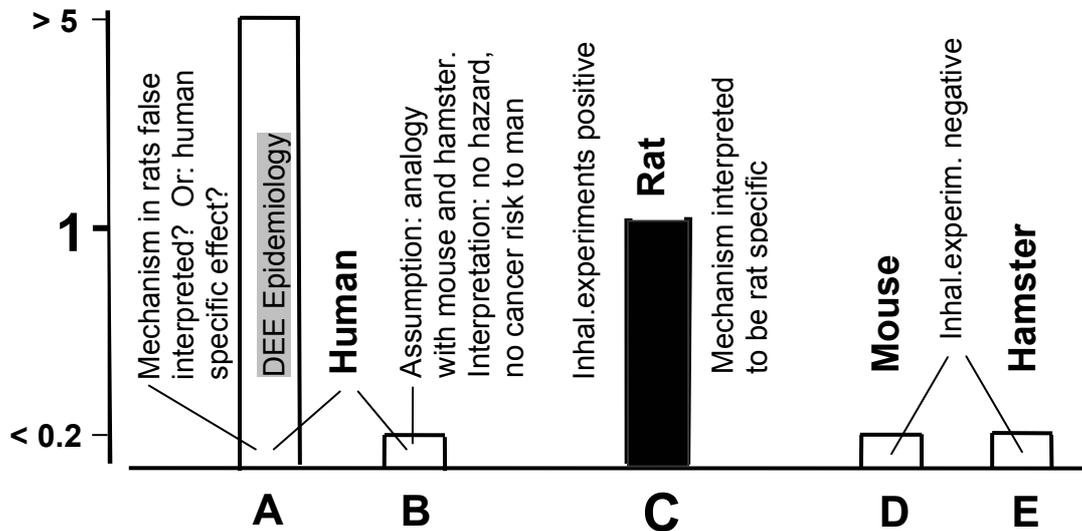


Fig. 9 - Illustration of the contradiction between epidemiologic positive carcinogenicity studies with diesel engine emissions (DEE) (column A in the figure) and the assumption of an analogy between human, mouse and hamster in the carcinogenic reaction to DEE (equal columns B, D, and E) (Figure according to UBA, 1999). Central point of the figure is the detected carcinogenicity of diesel soot in the rat lung; this potency is set with 1 (column C). If the enhanced lung cancer risk which was found in workers heavily exposed to DEE was caused by these emissions, then the carcinogenic potency of diesel soot is higher in man than in rats (unit risk $> 5 \times 10^{-4}$ per $\mu\text{g}/\text{m}^3$ in man, $\sim 1 \times 10^{-4}$ per $\mu\text{g}/\text{m}^3$ in rats (UBA, 1999)). The higher risk may either be caused by the same mechanism or DEE induce cancer in man by a mechanism different from that in rats. If the assumption is correct that the cancer risk from DEE in man is the same as that of mouse and hamster, then the positive epidemiologic findings must be false positive. These contrary interpretations lead to the question: Is the rat model too sensitive (relation column C to B) for predicting the cancer risk from DEE in man or is it not sensitive enough (relation C to A)?

Up to now, an additive carcinogenic effect of diesel soot with other GBP was not taken into consideration to explain the discrepancy between human and rat shown in this Figure. However, it is reasonable to assume that GBP were mostly present in a substantial concentration in the workplace atmosphere of workers who were highly exposed to DEE.